

①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

①2 Offenlegungsschrift  
①1 DE 3607287 A1

②1 Aktenzeichen: P 36 07 287.7  
②2 Anmeldetag: 6. 3. 86  
④3 Offenlegungstag: 7. 1. 88

*Verfälschung*

⑤1 Int. Cl. 4:  
C12N 1/20

C 12 P 17/08  
A 01 N 63/02  
A 01 N 43/22  
A 61 K 31/365  
C 07 D 313/00  
G 01 N 33/15  
// (C12N 1/20,  
C12R 1:545)A01N 57/  
10,47/10,37/00,29/00,  
47/30,43/64,47/36,  
43/707

DE 3607287 A1

⑦1 Anmelder:  
Bayer AG, 5090 Leverkusen, DE

⑦2 Erfinder:  
Dorgerloh, Michael, Dr., 5600 Wuppertal, DE;  
Kretschmer, Axel, Dr., 5603 Wülfrath, DE; Schmidt,  
Robert Rudolf, Dr., 5060 Bergisch Gladbach, DE;  
Steffens, Robert, Dr., 5000 Köln, DE; Zoebelin,  
Gerhard, Dr., 5090 Leverkusen, DE; Tietjen, Klaus,  
Dr., 4018 Langenfeld, DE; Roeben, Wolfgang, Dr.,  
5060 Bergisch Gladbach, DE; Stendel, Wilhelm, Dr.;  
Salcher, Olga, Dr., 5600 Wuppertal, DE

⑤4 Verfahren zur Herstellung von Borrelidin und seine Verwendung zur Schädlingsbekämpfung

Die Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Herstellung  
des Makrolidantibiotikums Borrelidin auf im wesentlichen  
mikrobiologischem Wege sowie die Verwendung von Borre-  
lidin zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen und Un-  
kräutern.

DE 3607287 A1

## Patentansprüche

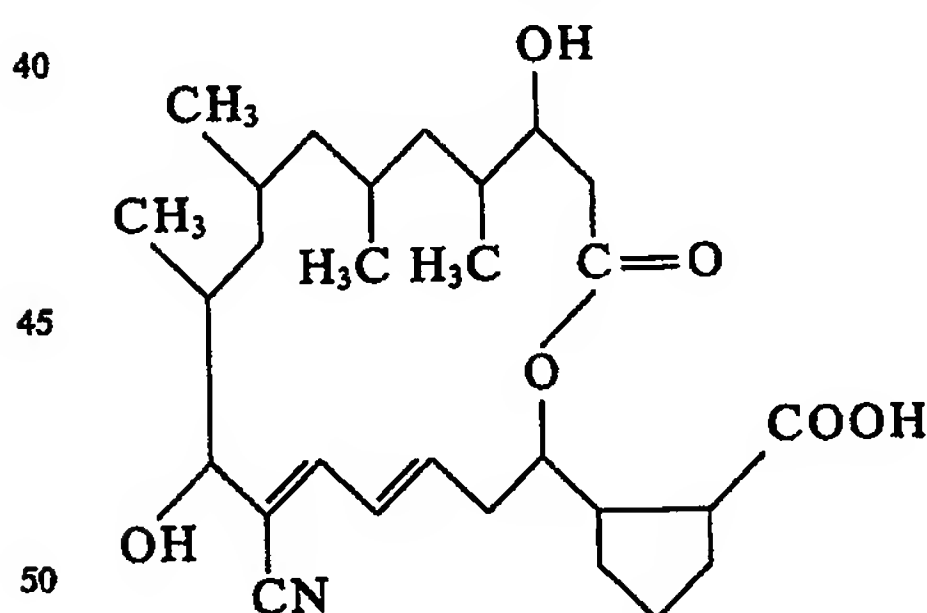
1. Mittel zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen und von Unkräutern, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Borrelidin.
2. Verfahren zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen und Unkräutern, dadurch gekennzeichnet, daß man Borrelidin auf die Schädlinge und Unkräuter oder ihren Lebensraum einwirken läßt.
3. Verwendung von Borrelidin oder von Schädlingsbekämpfungsmitteln, die Borrelidin enthalten zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen und Unkräutern.
4. Herstellung von Borrelidin enthaltenden Mitteln zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen und Unkräutern, dadurch gekennzeichnet, daß man Borrelidin mit Streckmitteln und/oder oberflächenaktiven Mitteln vermischt.
5. Verfahren zur Herstellung von Borrelidin, dadurch gekennzeichnet, daß man den Streptomyces griseus Stamm BS 1325 (entsprechend DSM 3605) oder seine Mutanten und Varianten in einem Nährmedium, welches assimilierbare C- und N-Quellen sowie Mineralsalze enthält unter aeroben Bedingungen kultiviert und Borrelidin nach üblichen Methoden isoliert.
6. Streptomyces griseus Stamm BS 1325 (entsprechend DSM 3605) und seine Mutanten und Varianten.
7. Borrelidin erhalten nach dem Verfahren gemäß Anspruch 5.
8. Schädlingsbekämpfungsmittel und Unkrautbekämpfungsmittel, gekennzeichnet durch einen Gehalt an Borrelidin, welches nach dem Verfahren gemäß Anspruch 5 erhalten wird.
9. Verwendung von Borrelidin, welches nach dem Verfahren gemäß Anspruch 5 erhalten wird, zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen und zur Bekämpfung von Unkräutern.
10. Verwendung von Borrelidin zur Herstellung von Mitteln zur Bekämpfung von Ektoparasiten bei Tieren.

## Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft die neue Verwendung der bereits bekannten Verbindung Borrelidin als Schädlingsbekämpfungsmittel, vorzugsweise zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen, insbesondere Arthropoden sowie zur Bekämpfung von Unkräutern. Weiterhin betrifft die vorliegende Erfindung ein neues Verfahren zur Herstellung von Borrelidin auf im wesentlichen mikrobiologischem Wege.

Borrelidin, seine mikrobielle Herstellung aus verschiedenen Streptomyceten-Arten und seine antibakterielle und antivirale Wirksamkeit sind bereits bekannt (vgl. Berger, J. u. M. W. Goldberg: J. Clin. Invest. 28, 1046 [1949], Jampolski, L. M. u. M. W. Goldberg: Arch. Biochem. 22, 476 [1949], Buck, M. et al.: Trans. N. Y. Acad. Sci. Ser. II 11, 207 [1948—1949], Jampolski, L. M. u. M. W. Goldberg: J. Clin. Invest. 28, 1046 [1949], Hütter, R. et al.: Biochem. Zeitschr. 344, 190 [1966], Keller-Schierlein, W.: Experientia 22, 355 [1966], Keller-Schierlein, W.: Helv. Chim. Acta 50, 731 [1967], Zoepel, P. et al.: Z. Allg. Mikrobiol. 13, 711 [1973], Eckhardt, K. et al.: Z. Allg. Mikrobiol. 10, 367 [1970], Nass, G.: Zentralbl. Bakteriell., Parasitenk., Infektionskr. Hyg., Abt. 1: Orig. 212, 239 [1970], Poralla, K. u. H. Zähler: Arch. Mikrobiol. 61, 143 [1968], Hirakawa, T. et al.: Agr. Biol. Chem. 38, 85 [1974]).

Es wurde nun gefunden, daß das Borrelidin der Formel



zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen bei Pflanzen, Tieren und Materialien sowie zur Bekämpfung von Unkräutern verwendet werden kann. Es weist insbesondere eine hohe Wirksamkeit gegen Arthropoden (wie Insekten und Spinnentiere) und darüber hinaus auch herbizide Eigenschaften auf. Borrelidin und diese Verbindung enthaltende Mittel können aufgrund dieser Eigenschaften besonders vorteilhaft im Pflanzenschutz, Vorratsschutz, im Hygienebereich sowie in der Tierzucht und Tierhaltung eingesetzt werden.

Weiterhin wurde gefunden, daß Borrelidin erhalten werden kann, wenn man den neuen Streptomyces griseus Stamm BS 1325 oder seine Varianten und Mutanten, welche die für die Ausführung der vorliegenden Erfindung wesentlichen Merkmale aufweisen, in üblicher Weise in einem Nährmedium, welches assimilierbare Kohlenstoff- und Stickstoffquellen sowie Mineralsalze enthält, unter aeroben Bedingungen kultiviert und die gewünschte Verbindung nach üblichen Methoden isoliert.

Der Stamm BS 1325 (DSM 3605) wurde bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen (DSMZ), Grisebachstraße 8, 3400 Göttingen, Bundesrepublik Deutschland, hinterlegt:

Stammkurz- bezeichnung	Hinterlegungs- nummer	Hinterlegung Datum
BS 1325	DSM 3605	11. Dez. 1985

5

## Beschreibung des Stammes BS 1325

Der Stamm BS 1325 stammt aus einer Erdprobe aus Neuseeland und wurde mit entsprechenden Selektionsmethoden zur Gewinnung von Streptomycceten isoliert.

10

Die Bestimmung erfolgte nach R. Hütter: Systematik der Streptomycceten, Karger Verlag, Basel 1967, T. G. Pridham and H. D. Tresner Streptomyccetaceae, in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8. Auflage 1974, Williams & Wilkins Comp. Baltimore, sowie International Journal of Systematic Bacteriology 16, 313—340 (1966) und The Procaryotes 2, 2128—2090 (1981).

15

## Beschreibung des Stammes BS 1325

Sporenoberfläche: glatt

Sporengröße (durchschnittlich): 1,8—2,4 µm auf 0,9—1,2 µm

Farbe des Luftmycel: gelb; insbesondere auf ISP-Medium Nr. 2. (Griseus-Typ) (vgl. dazu International Journal of Systematic Bacteriology 16, 313—340 [1966])

20

Sporenketten-Morphologie: Die Sporenketten sind gerade oder leicht gewellt (Griseus-Typ; vgl. die oben genannte Literatur)

keine Melaninbildung

Verwendung verschiedener C-Quellen

25

D-Glucose	+
L-Arabinose	+
Saccharose	+
D-Xylose	+
meso-Inosit	—
D-Mannit	+
D-Fructose	+
L-Rhamnose	+
Raffinose	+
Galactose	+
Kontrolle (ohne C-Quelle)	—

30

35

("+" bedeutet Verwertung und "—" bedeutet keine Verwertung).

40

Der Stamm BS 1325 ist aufgrund der Luftmyzelfarbe als typischer Vertreter der Griseus-Gruppe unter den Streptomycceten zu betrachten.

Das erfindungsgemäß verwendbare Borrelidin kann auch nach den bekannten Methoden durch Fermentation der bekannten Stämme Streptomycces parvulus DSM 40 728 und Streptomycces rochei DSM 40 231 erhalten werden.

45

Anhand von umfangreichen analytischen, insbesondere spektroskopischen Untersuchungen (Dünnschichtchromatographie, Massenspektrum, UV-, IR-, <sup>1</sup>H-NMR- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren) wurde gefunden, daß die erfindungsgemäß herstellbare und verwendbare Verbindung mit dem vorbekannten Borrelidin identisch ist.

Wie bereits erläutert, wird Borrelidin erfindungsgemäß durch die Fermentation des Stammes Streptomycces griseus BS 1325 (DSM 3605) oder dessen Mutanten und Varianten erzeugt.

50

Das erfindungsgemäße Fermentationsverfahren kann mit Hilfe fester, halbfester oder flüssiger Nährmedien durchgeführt werden. Bevorzugt werden wäßrig-flüssige Nährmedien verwendet.

Die Beimpfung der Nährmedien erfolgt nach allgemein üblichen Methoden, z. B. über Schrägröhrchen oder Kolbenkulturen.

Die Kultur erfolgt unter aeroben Bedingungen und kann gemäß den allgemein üblichen Methoden wie unter Verwendung von Schüttelkulturen z. B. in Schüttelkolben, von luftbewegten Kulturen oder von Submerskulturen durchgeführt werden. Bevorzugt erfolgt die Kultivierung im aeroben Submersverfahren in belüfteten Fermentern, z. B. in üblichen Submersfermentationstanks. Es ist möglich, die Kulturen kontinuierlich oder diskontinuierlich durchzuführen. Vorzugsweise wird diskontinuierlich gearbeitet.

55

Die Kultur kann in allen Nährmedien durchgeführt werden, welche bekannterweise zur Kultivierung von Mikroorganismen der Ordnung Actinomycetales verwendet werden. Das Nährmedium muß eine oder mehrere assimilierbare Kohlenstoffquellen und Stickstoffquellen sowie Mineralsalze enthalten, wobei diese Produkte in Form von definierten Einzelbestandteilen, aber auch in Form von komplexen Gemischen, wie sie insbesondere biologische Produkte verschiedenen Ursprungs darstellen, vorliegen können. Als Kohlenstoffquellen kommen alle üblichen Kohlenstoffquellen in Frage. Beispielsweise seien Kohlenhydrate, insbesondere Polysaccharide, wie Stärke oder Dextrine, Disaccharide, wie Maltose oder Rohrzucker, Monosaccharide, wie Glycose oder Xylose, Zuckeralkohole, wie Mannit oder Glycerin sowie natürlich vorkommende Gemische wie Malzextrakt, Melasse oder Molkepolver genannt. Als Stickstoffquellen kommen alle üblichen organischen und anorganischen

60

65



Stickstoffquellen in Frage. Beispielsweise seien Eiweißstoffe, Eiweißhydrolysate, Aminosäuren, wie Glutaminsäure, Asparaginsäure, Arginin, Lysin, Ornithin oder Serin, Nucleosidbasen, wie Cytosin oder Uracil sowie Sojabohnenmehl, Baumwollsaamenmehl, Linsenmehl, Erbsenmehl, lösliche und unlösliche, pflanzliche Proteine, Maisquellwasser, Hefeextrakt, Peptone und Fleischextrakt sowie Ammoniumsalze und Nitrate, z. B.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$  und  $\text{KNO}_3$  aufgeführt. Die Mineralsalze, welche im Nährmedium enthalten sein sollten, liefern z. B. folgende Ionen:

$\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{--}$ ,  $\text{PO}_4^{---}$  und  $\text{NO}_3^-$

sowie Ionen der üblichen Spurenelemente, wie Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, Co, Ni. Falls die Kohlenstoff- oder Stickstoffquellen bzw. das verwendete Wasser nicht ausreichend diese Salze bzw. Spurenelemente enthalten, ist es zweckmäßig, das Nährmedium entsprechend zu ergänzen. Die Zusammensetzung der Nährmedien kann in weiten Bereichen variiert werden. Art und Zusammensetzung der Nährmedien werden im allgemeinen davon abhängig sein, welche Bestandteile jeweils besonders günstig zur Verfügung stehen. Im allgemeinen meinen enthalten die Nährlösungen vorzugsweise etwa 0,5 bis 8%, insbesondere 0,6 bis 6% Kohlenstoffquellen, vorzugsweise etwa 0,5 bis 4%, insbesondere 0,5 bis 2% Stickstoffquellen und vorzugsweise etwa 0,001 bis 0,5%, insbesondere 0,003 bis 0,3% Mineralsalze.

Bei der Durchführung des Verfahrens kann es günstig sein, zu Beginn der Kultivierung nur relativ geringe Konzentrationen der löslichen Nährlösungsbestandteile zu verwenden und dann im Laufe der ersten 3 Kultivierungstage durch häufigere Zusätze diese Bestandteile in Form steriler, relativ konzentrierter Lösung dem Kulturansatz fraktioniert zuzufüttern.

Der pH-Wert der wachsenden Kulturen sollte vorzugsweise zwischen etwa 5 und etwa 10, insbesondere zwischen 6,5 und 9,5 gehalten werden. Ein zu starker pH-Abfall in den sauren Bereichen kann durch Zusätze einer organischen oder anorganischen Base, vorzugsweise von  $\text{CaCO}_3$  vermieden werden. Wie in der Fermentationstechnologie üblich, kann auch eine automatische pH-Regulierung durchgeführt werden, bei der sterile organische oder anorganische Säure, z. B.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , oder sterile Lauge, z. B.  $\text{NaOH}$  in Abständen in die Kulturlösung eingespritzt wird.

Es ist zweckmäßig sicherzustellen, daß die Mikroorganismen ausreichend mit Sauerstoff sowie den Nährstoffen in Kontakt gebracht werden. Dies kann nach den allgemein üblichen Methoden wie Schütteln und Rühren erfolgen.

Die Züchtungstemperatur kann zwischen etwa 15 und etwa 38°C, vorzugsweise zwischen 20 und 35°C liegen, besonders bevorzugt liegt sie bei etwa 28°C. Die Dauer der Züchtung kann stark variiert werden, wobei z. B. die Zusammensetzung des Nährmediums und die Züchtungstemperatur eine Rolle spielen. Die jeweiligen optimalen Bedingungen können von jedem Fachmann auf dem mikrobiologischen Gebiet leicht festgelegt werden.

Es hat sich herausgestellt, daß die Menge der sich in der Kulturbrühe anreichernden erfindungsgemäßen Verbindung im allgemeinen ihr Maximum etwa 1 bis 10, vorzugsweise etwa 4 bis 7 Tage nach Züchtungsbeginn erreicht. Das gewünschte Endprodukt der Fermentation kann mit Hilfe von dünnenschichtchromatographischen Untersuchungen, im Plattendiffusionstest mit einem geeigneten Mikroorganismus als Teststamm oder anhand der insektiziden Wirksamkeit bestimmt werden.

Wie allgemein bei mikrobiologischen Verfahren sollten Fremdinfectionen der Kulturmedien vermieden werden. Hierzu werden die üblichen Vorkehrungen getroffen, wie Sterilisation der Nährmedien, der Kulturgefäße sowie der für die Belüftung notwendigen Luft. Zur Sterilisation der Vorrichtungen können z. B. die Dampf- als auch die Trockensterilisation verwendet werden, wobei die Temperatur vorzugsweise bei 100 bis 140°C, insbesondere bei 120 bis 130°C liegen können.

Falls bei der Kultivierung in unerwünschter Menge Schaum entsteht, können die üblichen chemischen Schaumdämpfungsmittel, z. B. flüssige Fette und Öle, Öl-Wasser-Emulsionen, Paraffine, höhere Alkohole, wie Octadecanol, Siliconöle, Polyoxyethylen- bzw. Polyoxypropylenverbindungen (z. B. in Mengen bis etwa 1%) zugesetzt werden. Schaum kann auch mit Hilfe der üblichen mechanischen Vorrichtungen (welche z. B. Zentrifugalkräfte benutzen) gedämpft oder beseitigt werden.

Die erfindungsgemäß erhältliche Verbindung kann aus dem Kulturmedium nach allgemein üblichen physikalisch-chemischen Methoden isoliert werden. Die Isolierung kann z. B. gemäß den üblichen Extraktionsverfahren, Fällungsverfahren und/oder Chromatographieverfahren erfolgen. Der isolierte Stoff kann mit Hilfe der genannten Methoden auch feingereinigt werden. Für viele Fälle ist jedoch eine Feinreinigung nicht erforderlich, da gegebenenfalls vorhandene geringfügige Verunreinigungen die Wirksamkeit der Verbindung nicht nachteilig beeinflusst.

Bei den Isolierungs- und Reinigungsoperationen ist darauf zu achten, daß die pH-Werte im sauren oder neutralen Bereich liegen. Vorzugsweise werden pH-Werte zwischen 3 und 6 eingehalten, wobei zur Einstellung des pH-Wertes anorganische Säuren, wie Salzsäure und organische Säuren, wie Essigsäure verwendet werden können.

Um bei den oben angegebenen Isolierungs- und Reinigungsmethoden die Fraktionen herauszufinden, in welchen die erfindungsgemäß erhältliche Verbindung in höchster Konzentration bzw. Reinheit vorliegt, können die üblichen physikalisch-chemischen Methoden, z. B. Messen einer charakteristischen Bande im Spektrum oder der  $R_f$ -Werte, Bestimmung der antimikrobiellen Aktivität usw. herangezogen werden.

Die Isolierung und Reinigung der erfindungsgemäß verwendbaren Verbindung kann z. B. im Falle, daß ein flüssiges wäßriges Nährmedium verwendet wird, wie folgt vorgenommen werden:

Da der Wirkstoff sowohl im Kulturüberstand zu finden ist, als auch an das Myzel adsorbiert ist, wird zweckmäßigerweise die Verbindung mit Hilfe von üblichen Extraktionsverfahren, Fällungsverfahren und/oder Chromatographieverfahren aus dem Fermentationsansatz isoliert und gegebenenfalls gereinigt. Die Chromato-

graphie kann in Form der Säulenchromatographie durchgeführt werden. Als Adsorptionsmittel können die üblichen anorganischen oder organischen Adsorptionsmittel eingesetzt werden, wie z. B. Aluminiumoxid, Kieselgel, Magnesiumsilikat, Aktivkohle, Cellulose, Cellulosederivate, Kunstharze wie Polyamide, z. B. acetylierte Polyamide, Dextran oder modifizierte Dextran. Als Laufmittel können die verschiedensten Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemische verwendet werden, in welchen die erfindungsgemäße Verbindung löslich ist. Bevorzugt werden Lösungsmittel wie Essigsäureethylester, Chloroform und Methanol oder ihre Gemische (beispielsweise Gemische aus Chloroform und Methanol oder aus Essigsäureethylester und Chloroform) eingesetzt, die auch mit organischen Säuren, insbesondere Essigsäure, versetzt werden können. 5

Bevorzugt werden zur Isolierung des Borrelidin Chromatographie-Verfahren verwendet, z. B. unspezifische Adsorption an Sorbentien wie Kieselgel oder andererseits Geldiffusionschromatographie. Dies sind die von der Reinigung schlecht wasserlöslicher Naturstoffe her bekannten Methoden. 10

Aus ihren Lösungen kann die erfindungsgemäß verwendbare Verbindung nach den üblichen Methoden, z. B. Verdampfen des Lösungsmittels, Gefriertrocknung usw. erhalten werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird das bei der aeroben Kultur der Stämme bei etwa 27°C erhaltene Fermentationsgut (Kulturbrühe und Mycel) mit einem polaren Lösungsmittel, wie Essigsäureethylester mehrfach, vorzugsweise 3mal extrahiert. Aus dem Extrakt wird das Lösungsmittel (vorzugsweise im Vakuum bei etwa 20°C) abdestilliert. 15

Das Wirkstoff-Rohprodukt wird anschließend einer präparativen fraktionierten Säulenchromatographie unterworfen. Als Chromatographiematerial wird hierbei Sephadex LH-20 bevorzugt. Bevorzugte Eluenten sind Chloroform, Methanol oder Mischungen polarer Lösungsmittel. Die Borrelidin enthaltenden Fraktionen können leicht anhand dünnenschichtchromatographischer Untersuchungen festgelegt werden. Auf diese Weise wird die Rohwirkstoff-Fraktion erhalten. 20

Eine Feinreinigung des auf diese Weise erhaltenen (bereits recht reinen) Produktes erfolgt zweckmäßigerweise durch eine präparative Säulenchromatographie mit üblichen Geräten, wobei als Füllmaterial vorzugsweise übliche "reversed phase"-Materialien, wie mit Paraffin modifiziertes Kieselgel und als Eluente vorzugsweise Methanol/Wasser-Mischungen dienen. 25

Aufgrund seiner günstigen biologischen Eigenschaften kann Borrelidin als Schädlingsbekämpfungsmittel zur Bekämpfung von tierischen Pflanzenschädlingen, Vorratsschädlingen und Materialschädlingen (vorzugsweise Pflanzenschädlingen) verwendet werden, wobei insbesondere Insekten und Spinnentiere erfaßt werden.

Darüber hinaus ist auch die Bekämpfung von Ektoparasiten (wie Insekten und Acarinen) bei Warmblütern, insbesondere in der Tierzucht und Tierhaltung durch Borrelidin möglich. 30

Diese Anwendungsbereiche werden im folgenden erläutert:

Als Beispiele für die bekämpfbaren Arthropoden seien genannt:

Aus der Ordnung der Isopoda z. B. *Oniscus asellus*, *Armadillidium vulgare*, *Porcellio scaber*.

Aus der Ordnung der Diplopoda z. B. *Blaniulus guttulatus*. 35

Aus der Ordnung der Chilopoda z. B. *Geophilus carpophagus*, *Scutigera spec.*

Aus der Ordnung der Symphyla z. B. *Scutigera immaculata*.

Aus der Ordnung der Thysanura z. B. *Lepisma saccharina*.

Aus der Ordnung der Collembola z. B. *Onychirus armatus*.

Aus der Ordnung der Orthoptera z. B. *Blatta orientalis*, *Periplaneta americana*, *Leucophaea maderae*, *Blattella germanica*, *Acheta domesticus*, *Gryllotalpa spp.*, *Locusta migratoria migratorioides*, *Melanoplus differentialis*, *Schistocerca gregaria*. 40

Aus der Ordnung der Dermaptera z. B. *Forficula auricularia*.

Aus der Ordnung der Isoptera z. B. *Reticulitermes spp.*

Aus der Ordnung der Anoplura z. B. *Phylloxera vastatrix*, *Pemphigus spp.*, *Pediculus humanus corporis*, *Haematopinus spp.*, *Linognathus spp.* 45

Aus der Ordnung der Mallophaga z. B. *Trichodectes spp.*, *Damalinea spp.*

Aus der Ordnung der Thysanoptera z. B. *Hercinothrips femoralis*, *Thrips tabaci*.

Aus der Ordnung der Heteroptera z. B. *Eurygaster spp.*, *Dysdercus intermedius*, *Piesma quadrata*, *Cimex lectularius*, *Rhodnius prolixus*, *Triatoma spp.* 50

Aus der Ordnung der Homoptera z. B. *Aleurodes brassicae*, *Bemisia tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Aphis gossypii*, *Brevicoryne brassicae*, *Cryptomyzus ribis*, *Aphis fabae*, *Doralis pomi*, *Eriosoma lanigerum*, *Hyalopterus arundinis*, *Macrosiphum avenae*, *Myzus spp.*, *Phorodon humuli*, *Rhopalosiphum padi*, *Empoasca spp.*, *Euscelis bilobatus*, *Nephotettix cincticeps*, *Lecanium corni*, *Saissetia oleae*, *Laodelphax striatellus*, *Nilaparvata lugens*, *Aonidiella aurantii*, *Aspidiotus hederae*, *Pseudococcus spp.*, *Psylla spp.* 55

Aus der Ordnung der Lepidoptera z. B. *Pectinophora gossypiella*, *Bupalus piniarius*, *Cheimatobia brumata*, *Lithocolletis blancardella*, *Hyponomeuta padella*, *Plutella maculipennis*, *Malacosoma neustria*, *Euproctis chrysorrhoea*, *Lymantria spp.*, *Bucculatrix thurberiella*, *Phyllocnistis citrella*, *Agrotis spp.*, *Euxoa spp.*, *Feltia spp.*, *Earias insulana*, *Heliothis spp.*, *Spodoptera exigua*, *Mamestra brassicae*, *Panolis flammea*, *Prodenia litura*, *Spodoptera spp.*, *Trichoplusia ni*, *Carpocapsa pomonella*, *Pieris spp.*, *Chilo spp.*, *Pyrausta nubilalis*, *Ephestia kuehniella*, *Galleria mellonella*, *Tineola bisselliella*, *Tinea pellionella*, *Hofmannophila pseudospretella*, *Cacoecia podana*, *Capua reticulana*, *Choristoneura fumiferana*, *Clysia ambiguella*, *Homona magnanima*, *Tortrix viridana*. 60

Aus der Ordnung der Coleoptera z. B. *Anobium punctatum*, *Rhizopertha dominica*, *Acanthoscelides obtectus*, *Acanthoscelides obtectus*, *Hylotrupes bajulus*, *Agelastica alni*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Phaedon cochleariae*, *Diabrotica spp.*, *Psylliodes chrysocephala*, *Epilachna varivestis*, *Atomaria spp.*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Anthonomus spp.*, *Sitophilus spp.*, *Otiorrhynchus sulcatus*, *Cosmopolites sordidus*, *Ceuthorrhynchus assimilis*, *Hypera postica*, *Dermestes spp.*, *Trogoderma spp.*, *Anthrenus spp.*, *Attagenus spp.*, *Lyctus spp.*, *Meligethes aeneus*, *Ptinus spp.*, *Niptus hololeucus*, *Gibbium psyllioides*, *Tribolium spp.*, *Tenebrio molitor*, *Agriotes spp.*, *Conoderus* 65



spp., *Melolontha melolontha*, *Amphimallon solstitialis*, *Cosstelytra zealandica*.

Aus der Ordnung der Hymenoptera z. B. *Diprion* spp., *Hoplocampa* spp., *Lasius* spp., *Monomorium pharaonis*, *Vespa* spp.

- 5 Aus der Ordnung der Diptera z. B. *Aedes* spp., *Anopheles* spp., *Culex* spp., *Drosophila melanogaster*, *Musca* spp., *Fannia* spp., *Calliphora erythrocephala*, *Lucilia* spp., *Chrysomya* spp., *Cuterebra* spp., *Gastrophilus* spp., *Hyppobosca* spp., *Stromoxys* spp., *Oestrus* spp., *Hypoderma* spp., *Tabanus* spp., *Tannia* spp., *Bibio hortulanus*, *Oscinella frit*, *Phorbia* spp., *Pegomyia hyoscyami*, *Ceratitis capitata*, *Dacus oleae*, *Tipula paludosa*.

Aus der Ordnung der Siphonaptera z. B. *Xenopsylla cheopis*, *Ceratophyllus* spp.

Aus der Ordnung der Arachnida z. B. *Scorpia maurus*, *Latrodectus mactans*.

- 10 Aus der Ordnung der Acarina z. B. *Acarus siro*, *Argas* spp., *Ornithodoros* spp., *Dermanyssus gallinae*, *Eriophyes ribis*, *Phyllocoptruta oleivora*, *Boophilus* spp., *Rhipicephalus* spp., *Amblyomma* spp., *Hyalomma* spp., *Ixodes* spp., *Psoroptes* spp., *Chorioptes* spp., *Sarcoptes* spp., *Tarsonemus* spp., *Bryobia praetiosa*, *Panonychus* spp., *Tetranychus* spp.

- 15 Der erfindungsgemäß verwendbare Wirkstoff kann zur Bekämpfung der tierischen Schädlinge in handelsüblichen Formulierungen sowie in den aus diesen Formulierungen bereiteten Anwendungsformen in Mischung mit anderen Wirkstoffen, wie Insektiziden, Lockstoffen, Sterilantien, Akariziden, Nematiziden, Fungiziden, wachstumsregulierenden Stoffen oder Herbiziden vorliegen. Zu den Insektiziden zählen beispielsweise Phosphorsäureester, Carbamate, Carbonsäureester, chlorierte Kohlenwasserstoffe, Phenylharnstoffe, durch Mikroorganismen hergestellte Stoffe u. a.

- 20 Der Wirkstoff kann ferner in handelsüblichen Formulierungen sowie in den aus diesen Formulierungen bereiteten Anwendungsformen in Mischung mit Synergisten vorliegen. Synergisten sind Verbindungen, durch die die Wirkung der Wirkstoffe gesteigert wird, ohne daß der zugesetzte Synergist selbst aktiv wirksam sein muß.

- 25 Der Wirkstoffgehalt der aus den handelsüblichen Formulierungen bereiteten Anwendungsformen kann in weiten Bereichen variieren. Die Wirkstoffkonzentration der Anwendungsformen kann von 0,0000001 bis zu 95 Gew.-% Wirkstoff, vorzugsweise zwischen 0,0001 und 1 Gew.-% liegen.

Die Anwendung geschieht in einer den Anwendungsformen angepaßten üblichen Weise.

Bei der Anwendung gegen Hygiene- und Vorratsschädlinge zeichnet sich der Wirkstoff durch eine hervorragende Residualwirkung auf Holz und Ton sowie durch eine gute Alkalistabilität auf gekalkten Unterlagen aus.

- 30 Der erfindungsgemäß verwendbare Wirkstoff eignet sich auch zur Bekämpfung von Arthropoden, die landwirtschaftliche Nutztiere, wie z. B. Rinder, Schafe, Ziegen, Pferde, Schweine, Esel, Kamele, Büffel, Kaninchen, Hühner, Puten, Enten, Gänse, Bienen, sonstige Haustiere wie z. B. Hunde, Katzen, Stubenvögel, Aquarienfische sowie sog. Versuchstiere, wie z. B. Hamster, Meerschweinchen, Ratten und Mäuse befallen.

- 35 Durch die Bekämpfung dieser Arthropoden sollen Todesfälle und Leistungsminderungen (bei Fleisch, Milch, Wolle, Häuten, Eiern, Honig usw.) vermindert werden, so daß durch den Einsatz des Wirkstoffs eine wirtschaftliche Tierhaltung möglich ist.

- 40 Die Anwendung des erfindungsgemäß verwendbaren Wirkstoffs geschieht im Veterinärsektor in bekannter Weise durch dermale Anwendung in Form beispielsweise des Tauchens oder Badens (Dippen), Sprühen (Spray), Aufgießens (Pour-on und Spot-on), des Waschens, des Einpuderns sowie mit Hilfe von wirkstoffhaltigen Formkörpern, wie Halsbändern, Ohrmarken, Schwanzmarken, Gliedmaßenbändern, Halftern, Markierungsvorrichtungen usw.

- 45 Der erfindungsgemäß verwendbare Wirkstoff weist bei geeigneter Aufwandmenge auch gute herbizide Eigenschaften auf und kann als Defoliant, Desiccant, Krautabtötungsmittel und insbesondere als Unkrautvernichtungsmittel verwendet werden. Unter Unkraut im weitesten Sinne sind alle Pflanzen zu verstehen, die an Orten aufwachsen, wo sie unerwünscht sind. Ob der Wirkstoff als totales oder selektives Herbizid wirkt, hängt im wesentlichen von der angewendeten Menge ab.

Der Wirkstoff kann z. B. bei den folgenden Pflanzen verwendet werden:

#### Dikotyle Unkräuter der Gattungen

- 50 *Sinapis*, *Lepidium*, *Galium*, *Stellaria*, *Matricaria*, *Anthemis*, *Galinsoga*, *Chenopodium*, *Urtica*, *Senecio*, *Amaranthus*, *Portulaca*, *Xanthium*, *Convolvulus*, *Ipomoea*, *Polygonum*, *Sesbania*, *Ambrosia*, *Cirsium*, *Carduus*, *Sonchus*, *Solanum*, *Rorippa*, *Rotala*, *Lindernia*, *Lamium*, *Veronica*, *Abutilon*, *Emex*, *Datura*, *Viola*, *Galeopsis*, *Papaver*, *Centaurea*.

#### Dikotyle Kulturen der Gattungen

- 60 *Gossypium*, *Glycine*, *Beta*, *Daucus*, *Phaseolus*, *Pisum*, *Solanum*, *Linum*, *Ipomoea*, *Vicia*, *Nicotiana*, *Lycopersicon*, *Arachis*, *Brassica*, *Lactuca*, *Cucumis*, *Cucurbita*.

#### Monokotyle Unkräuter der Gattungen

- 65 *Echinochloa*, *Setaria*, *Panicum*, *Digitaria*, *Phleum*, *Poa*, *Festuca*, *Eleusine*, *Brachiaria*, *Lolium*, *Bromus*, *Avena*, *Cyperus*, *Sorghum*, *Agropyron*, *Cynodon*, *Monochoria*, *Fimbristylis*, *Sagittaria*, *Eleocharis*, *Scirpus*, *Paspalum*, *Ischaemum*, *Sphenoclea*, *Dactyloctenium*, *Agrostis*, *Alopecurus*, *Apera*.

## Monokotyle Kulturen der Gattungen

Oryza, Zea, Triticum, Hordeum, Avena, Secale, Sorghum, Panicum, Saccharum, Ananas, Asparagus, Allium.

Die Verwendung des Wirkstoffs ist jedoch keineswegs auf die Gattungen beschränkt, sondern erstreckt sich in gleicher Weise auch auf andere Pflanzen.

Die Verbindung eignet sich in Abhängigkeit von der Konzentration zur Totalunkrautbekämpfung z. B. auf Industrie- und Gleisanlagen und auf Wegen und Plätzen mit und ohne Baumbewuchs. Ebenso kann die Verbindung zur Unkrautbekämpfung in Dauerkulturen, z. B. Forst, Ziergehölz-, Obst-, Wein-, Citrus-, Nuß-, Bananen-, Kaffee-, Tee-, Gummi-, Ölpalm-, Kakao-, Beerenfrucht- und Hopfenanlagen und zur selektiven Unkrautbekämpfung in einjährigen Kulturen eingesetzt werden.

Der erfindungsgemäß verwendbare Wirkstoff kann zur Erreichung der herbiziden Wirkung als solcher oder in seinen Formulierungen auch in Mischung mit bekannten Herbiziden zur Unkrautbekämpfung Verwendung finden, wobei Fertigformulierungen oder Tankmischungen möglich sind.

Für die Mischungen kommen bekannte Herbizide wie z. B. 1-Amino-6-ethylthio-3-(2,2-dimethylpropyl)-1,3,5-triazin-2,4-(1H,3H)-dion oder N-(2-Benzthiazolyl)-N,N'-dimethyl-harnstoff zur Unkrautbekämpfung in Getreide; 4-Amino-3-methyl-6-phenyl-1,2,4-triazin-5(4H)-on zur Unkrautbekämpfung in Zuckerrüben und 4-Amino-6-(1,1-dimethylethyl)-3-methylthio-1,2,4-triazin-5(4H)-on zur Unkrautbekämpfung in Sojabohnen, in Frage. Einige Mischungen zeigen überraschenderweise auch synergistische Wirkung.

Auch eine Mischung mit anderen bekannten Wirkstoffen, wie Fungiziden, Insektiziden, Akariziden, Nematiziden, Schutzstoffen gegen Vogelfraß, Pflanzennährstoffen und Bodenstrukturverbesserungsmitteln ist möglich.

Der Wirkstoff kann als solcher, in Form seiner Formulierungen oder den daraus durch weiteres Verdünnen bereiteten Anwendungsformen, wie gebrauchsfertige Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Pulver, Pasten und Granulate angewandt werden. Die Anwendung geschieht in üblicher Weise, z. B. durch Gießen, Spritzen, Sprühen, Streuen.

Der Wirkstoff kann sowohl vor als auch nach dem Auflaufen der Pflanzen appliziert werden.

Er kann auch vor der Saat in den Boden eingearbeitet werden.

Die angewandte Wirkstoffmenge kann bei der Verwendung als Herbizid in einem größeren Bereich schwanken. Sie hängt im wesentlichen von der Art des gewünschten Effektes ab. Im allgemeinen liegen die Aufwandmengen zwischen 0,01 und 15 kg Wirkstoff pro Hektar Bodenfläche, vorzugsweise zwischen 0,05 und 10 kg pro ha.

Der Wirkstoff kann zu den angegebenen Zwecken in die üblichen Formulierungen übergeführt werden, wie Lösungen, Emulsionen, Suspensionen, Pulver, Schäume, Pasten, Granulate, Aerosole, Wirkstoff-imprägnierte Natur- und synthetische Stoffe, Feinstverkapselungen in polymeren Stoffen und in Hüllmassen für Saatgut.

Diese Formulierungen werden in bekannter Weise hergestellt, z. B. durch Vermischen des Wirkstoffs mit Streckmitteln, also flüssigen Lösungsmitteln, unter Druck stehenden verflüssigten Gasen und/oder festen Trägerstoffen, gegebenenfalls unter Verwendung von oberflächenaktiven Mitteln, also Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln und/oder schaum erzeugenden Mitteln. Im Falle der Benutzung von Wasser als Streckmittel können z. B. auch organische Lösungsmittel als Hilfslösungsmittel verwendet werden. Als flüssige Lösungsmittel kommen im wesentlichen in Frage: Aromaten, wie Xylol, Toluol, oder Alkyl-naphthaline, chlorierte Aromaten oder chlorierte aliphatische Kohlenwasserstoffe, wie Chlorbenzole, Chlorethylene oder Methylenchlorid, aliphatische Kohlenwasserstoffe, wie Cyclohexan oder Paraffine, z. B. Erdölfractionen, Alkohole, wie Butanol oder Glykol sowie deren Ether und Ester, Ketone, wie Aceton, Methylethylketon, Methylisobutylketon oder Cyclohexanon, stark polare Lösungsmittel, wie Dimethylformamid und Dimethylsulfoxid, sowie Wasser; mit verflüssigten gasförmigen Streckmitteln oder Trägerstoffen sind solche Flüssigkeiten gemeint, welche bei normaler Temperatur und unter Normaldruck gasförmig sind, z. B. Aerosol-Treibgas, wie Halogenkohlenwasserstoffe sowie Butan, Propan, Stickstoff und Kohlendioxid; als feste Trägerstoffe kommen in Frage: z. B. natürliche Gesteinsmehle, wie Kaoline, Tonerden, Talkum, Kreide, Quarz, Attapulgit, Montmorillonit oder Diatomeenerde und synthetische Gesteinsmehle, wie hochdisperse Kieselsäure, Aluminiumoxid und Silikate; als feste Trägerstoffe für Granulate kommen in Frage: z. B. gebrochene und fraktionierte natürliche Gesteine wie Calcit, Marmor, Bims, Sepiolith, Dolomit sowie synthetische Granulate aus anorganischen und organischen Mehlen sowie Granulate aus organischem Material wie Sägemehl, Kokosnußschalen, Maiskolben und Tabakstengel; als Emulgier- und/oder schaum erzeugende Mittel kommen in Frage: z. B. nichtionogene und anionische Emulgatoren, wie Polyoxyethylen-Fettsäure-Ester, Polyoxyethylen-Fettalkohol-Ether, z. B. Alkylarylpolyglykol-Ether, Alkylsulfonate, Alkylsulfate, Arylsulfonate sowie Eiweißhydrolysate; als Dispergiermittel kommen in Frage: z. B. Lignin-Sulfitablaugen und Methylcellulose.

Es können in den Formulierungen Haftmittel wie Carboxymethylcellulose, natürliche und synthetische pulverige, körnige oder latexförmige Polymere verwendet werden, wie Gummiarabicum, Polyvinylalkohol, Polyvinylacetat, sowie natürliche Phospholipide, wie Kephaline und Lecithine, und synthetische Phospholipide. Weitere Additive können mineralische und vegetabile Öle sein.

Es können Farbstoffe wie anorganische Pigmente, z. B. Eisenoxid, Titanoxid, Ferrocyankobalt und organische Farbstoffe, wie Alizarin-, Azo- und Metallphthalocyaninfarbstoffe und Spurennährstoffe wie Salze von Eisen, Mangan, Bor, Kupfer, Kobalt, Molybdän und Zink verwendet werden.

Die Formulierungen enthalten im allgemeinen zwischen 0,1 und 95 Gewichtsprozent Wirkstoff, vorzugsweise zwischen 0,5 und 90%.

Der besonders bevorzugte erfindungsgemäße Anwendungsbereich von Borrelidin liegt in seiner Verwendung zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen in den Bereichen Pflanzenschutz, Vorratsschutz und Hygiene, vorzugsweise in Pflanzenschutz und Vorratsschutz, besonders bevorzugt im Pflanzenschutz, sowie in seiner Verwendung als Herbizid. Die bevorzugten Schädlingsbekämpfungsmittel enthalten außer dem Wirkstoff (und



gegebenenfalls weiteren Wirkstoffen) stets wenigstens einen oberflächenaktiven Stoff sowie wenigstens ein flüssiges oder festes Verdünnungsmittel.

Die Wirksamkeit des Borrelidin für die erfindungsgemäßen Anwendungsbereiche soll anhand der folgenden Beispiele erläutert werden:

5

#### Beispiel A

##### Test mit *Lucilia cuprina* (org. Phosphorsäureesterresistent-Larven)

- 10 Emulgator: 35 Gewichtsteile Ethylenglykolmonomethylether  
35 Gewichtsteile Nonylphenolpolyglykolether

Zur Herstellung einer zweckmäßigen Wirkstoffzubereitung vermischt man drei Gewichtsteile Wirkstoff mit sieben Gewichtsteilen des oben angegebenen Gemisches und verdünnt das so erhaltene Konzentrat mit Wasser auf die jeweils gewünschte Konzentration.

15 Etwa 20 *Lucilia cuprina* res.-Larven werden in ein Teströhrchen gebracht, welches ca. 1 g Pferdefleisch und 0,5 ml der Wirkstoffzubereitung enthält. Nach 24 Stunden wird der Abtötungsgrad bestimmt.

Bei diesem Test zeigte Borrelidin bei einer beispielhaften Konzentration von 0,01% einen Abtötungsgrad von 100%.

20

#### Beispiel B

##### Test mit *Psoroptes ovis*

- 25 Emulgator: 35 Gewichtsteile Ethylenglykolmonomethylether  
35 Gewichtsteile Nonylphenolpolyglykolether

Zur Herstellung einer zweckmäßigen Wirkstoffzubereitung vermischt man drei Gewichtsteile Wirkstoff mit sieben Gewichtsteilen des oben angegebenen Gemisches und verdünnt das so erhaltene Konzentrat mit Wasser auf die gewünschte Konzentration.

30 Etwa 10—25 *Psoroptes ovis* werden in 1 ml der zu testenden Wirkstoffzubereitung gebracht, die in Tabletten- nester einer Tiefziehverpackung pipettiert wurden. Nach 24 Stunden wird der Abtötungsgrad bestimmt.

Bei diesem Test zeigte Borrelidin bei einer beispielhaften Konzentration von 0,1% einen Abtötungsgrad von 100%.

35

#### Beispiel C

##### Test mit *Boophilus microplus* resistent

- 40 Lösungsmittel: 35 Gewichtsteile Ethylenglykolmonomethylether  
35 Gewichtsteile Nonylphenolpolyglykolether

Zur Herstellung einer zweckmäßigen Wirkstoffzubereitung vermischt man drei Gewichtsteile Wirkstoff mit sieben Gewichtsteilen des oben angegebenen Lösungsmittel-Gemisches und verdünnt das so erhaltene Konzentrat mit Wasser auf die gewünschte Konzentration.

45 10 adulte *Boophilus microplus* res. werden in die zu testende Wirkstoffzubereitung 1 Minute getaucht. Nach Überführung in Plastikbecher und Aufbewahrung in einem klimatisierten Raum wird der Abtötungsgrad bestimmt.

Bei diesem Test zeigte Borrelidin bei einer beispielhaften Konzentration von 0,03% einen Abtötungsgrad von mehr als 50%.

50

#### Beispiel D

##### Tetranychus-Test

55

- Lösungsmittel: 3 Gewichtsteile Aceton  
Emulgator: 1 Gewichtsteil Alkylarylpolyglykolether

Zur Herstellung einer zweckmäßigen Wirkstoffzubereitung vermischt man 1 Gewichtsteil Wirkstoff mit der angegebenen Menge Lösungsmittel und der angegebenen Menge Emulgator und verdünnt das Konzentrat mit Wasser auf die gewünschte Konzentration.

Bohnenpflanzen (*Phaseolus vulgaris*), die mit etwa 100 Eiern der Bohnenspinnmilbe (*Tetranychus urticae*) besetzt sind, werden durch Tauchen in die Wirkstoffzubereitung der gewünschten Konzentration behandelt.

65 Nach der gewünschten Zeit wird die Abtötung in % bestimmt. Dabei bedeutet 100%, daß alle Individuen im Ei- oder im Larvenstadium abgetötet wurden; 0% bedeutet, daß sich aus allen Eiern adulte Spinnenmilben entwickeln konnten.

Bei diesem Test zeigte das Borrelidin bei einer beispielhaften Konzentration von 0,004%, bei guter Pflanzenverträglichkeit, eine Abtötung von 100%.



## Beispiel E

Entwicklungshemmtest mit *Dysdercus intermedius* (Baumwollkapselwanze)

Lösungsmittel: 3 Gewichtsteile Aceton  
Emulgator: 1 Gewichtsteil Alkylarylpolyglykolether

Zur Herstellung einer zweckmäßigen Wirkstoffzubereitung vermischt man 1 Gewichtsteil Wirkstoff mit der angegebenen Menge Lösungsmittel und der angegebenen Menge Emulgator und verdünnt das Konzentrat mit Wasser auf die gewünschte Konzentration.

In Plastikdosen werden je 10 Nymphen der Baumwollkapselwanze einige Baumwollsamen und ein mit der Wirkstoffzubereitung getränktes Watteröllchen angeboten. Nach der gewünschten Zeit wird die Abtötung in % bestimmt.

Bei diesem Test bewirkte das Borrelidin bei einer beispielhaften Konzentration von 0,1% eine 100%ige Abtötung.

## Beispiel F

Entwicklungshemmtest mit *Ceratitis capitata* (Mittelmeerfruchtfliege)

Lösungsmittel: 3 Gewichtsteile Aceton  
Emulgator: 1 Gewichtsteil Alkylarylpolyglykolether

Zur Herstellung einer zweckmäßigen Wirkstoffzubereitung vermischt man 1 Gewichtsteil Wirkstoff mit der angegebenen Menge Lösungsmittel und der angegebenen Menge Emulgator und verdünnt das Konzentrat mit Wasser auf die gewünschte Konzentration.

Je 20 Eier der Mittelmeerfruchtfliege werden auf Kunstfutterbrei in ein Döschen gelegt. Das Futter ist mit Wirkstoff in der angegebenen Konzentration behandelt. Die Summe der abgetöteten Eier, Larven, Puppen und Imagines bezogen auf die Zahl eingesetzter Eier ergibt die Abtötung in %.

Dabei bedeutet 100%, daß alle Tiere abgetötet wurden; 0% bedeutet, daß keine Tiere abgetötet wurden.

Bei diesem Test zeigte der Wirkstoff bei einer beispielhaften Konzentration von 0,00016% eine 100%ige Abtötung.

## Beispiel G

## Post-emergence-Test/Vermiculite

In Schalen, die mit Vermiculite gefüllt sind, werden Samen von verschiedenen Unkräutern ausgelegt. Die Schalen werden dann mit einer Hoagland-Nährlösung gegossen, bis die Pflanzen eine Größe von 5 bis 10 cm erreicht haben.

Dann werden die Pflanzen mit einer Wirkstoffzubereitung gespritzt.

Nach 2 Wochen wird der Schädigungsgrad der Pflanzen bonitiert in % Schädigung im Vergleich zur Entwicklung der unbehandelten Kontrolle.

Borrelidin zeigt eine hohe Wirksamkeit, wie aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist.

Wirkstoff	Aufwand- menge g/ha	% Wirkung				
		Chenopo- dium	Lepidium	Portulaca	Echino- chloa	Poa
Borrelidin	2000	100	100	100	100	100

Das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung von Borrelidin mit Hilfe des Stammes BS 1325 soll anhand der folgenden Beispiele erläutert werden:

## I. Beispiel für die Fermentation des Stammes BS 1325

## I.1 Fermentation des Stammes BS 1325

Der Stamm BS 1325 wird bei etwa 4°C im Kühlraum auf einem Schrägagarröhrchen gehalten. Der hierzu verwendete HA-Agar enthält je Liter 4 g Hefeextrakt, 10 g Malz, 4 g Dextrose und 15 g Agar (Rest: Wasser) und hat einen pH-Wert von 7,3. Sporenlösungen des Stammes BS 1325 werden bei -20°C aufbewahrt.

Für die Fermentation wird eine Nährlösung eingesetzt, welche, außer Leitungswasser, 1,5% Magermilch (peptonisiert), 0,15% Hefeautolysat (Ohly), 4,5% Dextrin und 0,5% Glucose enthält und einen pH-Wert von 7,0 aufweist.

## a) Durchführung im Kolbenmaßstab

1000-ml-Erlenmeyerkolben, die 150 ml Nährlösung enthalten, werden aus einer Schrägagarkultur beimpft und auf der rotierenden Schüttelmaschine bei 280 rpm (Umdrehungen pro Minute) und 28°C für 4 bis 5 Tage inkubiert. Als Vorkultur für den 30-l-Fermenter dient eine 48 h alte Kultur.

## b) Durchführung im 30-l-Fermenter

Die Fermentation wird in einem 30-l-Fermenter durchgeführt, der 20 l Nährlösung, welche außer Leitungswasser, 1,5% Magermilch (peptonisiert), 0,15% Hefeautolysat (Ohly), 4,5% Dextrin und 0,5% Glucose enthält. Die Sterilisation erfolgt für 30 min bei 121°C. Bei 28°C Inkubationstemperatur und 400 rpm des Rührers werden 20 l Luft pro Minute in die Kulturflüssigkeit eingeleitet. Die Impfmateri­almenge beträgt 10% der unter a) beschriebenen Kultur.

Die Ernte erfolgt nach ca. 96 bis 120 Stunden.

## I.2 Beispiele für die Aufarbeitung der gemäß I.1 erhaltenen Kulturbrühen

## a) Herstellung der Wirkstoff-Rohextraktlösung

Das Fermentationsgut wird mit gleichen Volumen Aceton versetzt und intensiv gerührt. Anschließend werden die festen Zell- und Nährbodenbestandteile durch Zentrifugation abgetrennt, das Aceton wird im Hochvakuum bei 20°C abgezogen und der wäßrige Rückstand auf pH 3 eingestellt und mit gleichem Volumen Essigester versetzt und intensiv gerührt. Die organische Phase wird mittels geeigneter Separationsverfahren abgetrennt und im Hochvakuum bei 20°C zu ca. 8 g öligem Rohprodukt eingeeengt. Die wäßrige Phase wird verworfen.

## b) Grobreinigung des Wirkstoff-Rohextrakts

Diese 8 g Rohextrakt werden an Sephadex LH-20 (Säule 50 × 1000 mm) mit Methanol chromatographiert. Aufgrund der DC-Kontrolle wurden folgende Fraktionen (Fr.) vereinigt und das Lösungsmittel abdestilliert:

Fr. 1—19	(0,2 Bettvolumen) 1,5 g lipophile Begleitsubstanzen mit vernachlässigbarem Wirkstoffanteil.
Fr. 20—50	(0,2—0,8 Bettvolumen) 0,9 g Rohprodukt (Wirkstoff-Hauptbestandteil)
Fr. 51—200	(0,8—2,3 Bettvolumen) 5 g polare Begleitsubstanzen mit vernachlässigtem Wirkstoffanteil

## c) Feinreinigung des Wirkstoffes

## RP 8-Säule (reserved phase)

0,9 g angereicherte Wirkstoff-Fraktion aus Fr. 20—50 werden in 2 ml Methanol gelöst und an silanisiertem Kieselgel 60 (LiChroprep RP 8, 40—63 µm, Lobar Fertigsäule Größe B, Fa. E. Merck, Darmstadt) mit Methanol/Wasser 40 : 10) chromatographiert.

Fr. 1—32	(1,2 Bettvolumen) 0,1 g hydrophile Begleitsubstanzen
Fr. 33—52	(1,2—1,9 Bettvolumen) 0,58 g Wirkstoff-Hauptfraktion.
ab Fr. 53	(ab 1,9 Bettvolumen) 1,5 g lipophile Begleitsubstanzen.

Die dünnschichtchromatographische Kontrolle (DC-Kontrolle) erfolgt auf MERCK DS-Fertigplatten Kieselgel 60 F 254, Schichtdicke 0,25 mm, im Laufmittelsystem  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  (9 : 1) (Vol.-Teile).

Das Produkt kann durch UV (254 nm), Besprühen mit Anisaldehyd/ $\text{H}_2\text{SO}_4$  nachgewiesen werden.

## II. Beispiele für die Fermentation des bekannten Stammes Streptomyces parvulus DSM 40 728

## II.1 Fermentation des Stammes Streptomyces parvulus DSM 40 728

Der Stamm Streptomyces parvulus DSM 40 728 wird bei +4°C als Stammkonserve auf einem Schrägagarröhrchen gehalten. Der hierzu verwendete HA-Agar enthält je Liter 4 g Hefeextrakt, 10 g Malz, 4 g Dextrose und 15 g Agar (Rest: Wasser) und hat einen pH-Wert von 7,3. Sporenlösungen des Stammes werden bei -20°C aufbewahrt.

Für die Fermentation wird eine Nährlösung eingesetzt, welche, außer Leitungswasser, 20 g vollfestes Sojamehl und 20 g Mannit enthält und einen pH-Wert von 7,5 aufweist.

## a) Durchführung im Schüttelkolbenmaßstab

1000-ml-Erlenmeyerkolben, die 120 ml Nährlösung enthalten, werden aus einer Schrägagarkultur beimpft und auf einer rotierenden Schüttelmaschine bei 280 rpm/Umdrehungen pro Minute und 27°C für 96 Stunden inkubiert.

Als Vorkultur für einen 15-l-Fermenter dient eine 72 Stunden alte Vorkultur.

## b) Durchführung im 15-l-Fermenter

Die Fermentation wird in einem 15-l-Fermenter durchgeführt, der 10 l Nährlösung, wie oben beschrieben, enthält. Die Sterilisation erfolgt für 20 Minuten bei 121°C. Bei 27°C Inkubationstemperatur und 500 rpm des Blattrührers werden 5 l Luft pro Minute in die Kulturflüssigkeit eingeleitet. Die Impfgutmenge beträgt 10% der unter a) beschriebenen Kultur. Die Ernte der Kultursuspension erfolgt nach 96 Stunden. Die Kultursuspension enthält Borrelidin. 5

## II.2 Isolierung und Reinigung von Borrelidin

Borrelidin wird aus einer Kultursuspension, die gemäß einer Fermentation nach Beispiel II.1 erhalten wurde, folgendermaßen isoliert: 10

Durch Zentrifugation werden aus 10 l Kultursuspension 1 kg nasses Myzel und 9 l Kulturüberstand erhalten.

Der Kulturüberstand wird mit konz.  $H_3PO_4$  auf pH = 3 eingestellt und mit 5 l/h auf eine 10 x 40 cm Lewapolsäure aufgetragen. Auf die gleiche Säule wird der wäßrige Rückstand des Acetonextraktes (3 l Aceton eingesetzt) des Myzels aufgetragen. 15

Der Durchlauf und 20 l Waschwasser der Lewapolsäule werden verworfen, das Methanol-Desorbat der Lewapolsäule wird aufgefangen und zur Trockne eingengt und ergibt 13 g Rohprodukt.

13 g Rohprodukt werden zunächst mit 250 ml n-Hexan zur Abtrennung von Fetten und anschließend mit 250 ml Dichlormethan extrahiert. Der Dichlormethanextrakt wird auf 20 ml eingengt und an einer Sephadex LH 20-Säule (5 x 100 cm) mit Dichlormethan chromatographiert. Die herbizid wirksamen Fraktionen werden vereinigt, eingengt und ergeben 2 g eines hellen Öls. 20

Dieses Öl wird an einer kurzen Kieselgelsäule (Si 60, 70 bis 230 mesh ASTM, 80 x 80 mm) mit Dichlormethan-Methanol Lösungsmittelgemischen chromatographiert. Die herbizide Fraktion wird eingengt und in Methanol zur Kristallisation gebracht. Es werden 50 mg des farblosen Borrelidin erhalten. 25

Die analytischen und spektroskopischen Daten der nach den Beispielen I und II erhaltenen Verbindung stimmen mit den entsprechenden Literaturangaben überein, so daß der erhaltene Stoff eindeutig identifiziert ist.

Folgende Warenzeichen wurden in der Beschreibung und den Beispielen aufgeführt:

SEPHADEX LH 20	epichlorhydrinvernetztes, hydroxypropyliertes Dextran in Perlform; 30
LABOR-Fertigsäulen	SEPHADEX ist ein Warenzeichen der Firma Pharmacia, Uppsala, Schweden.
LICHROPREP Si	(Warenzeichen der Fa. E. Merck, Darmstadt, Bundesrepublik Deutschland) ist eine mit Kieselgel gefüllte Fertigsäule.
LEWAPOL	ist ein Copolymeres auf Basis von Styrol und Divinylbenzol in Perlform (makroporös); 35
	LEWAPOL ist ein Warenzeichen der BAYER AG, Leverkusen, Bundesrepublik Deutschland.

40

45

50

55

60

65



- Leerseite -

## Process for the preparation of borrelidin and its use as pesticide

**Publication number:** DE3607287

**Publication date:** 1988-01-07

**Inventor:** DORGERLOH MICHAEL DR (DE); KRETSCHMER  
AXEL DR (DE); SCHMIDT ROBERT RUDOLF DR (DE);  
STEFFENS ROBERT DR (DE); ZOEBELEIN GERHARD  
DR (DE); TIETJEN KLAUS DR (DE); ROEBEN  
WOLFGANG DR (DE); STENDEL WILHELM DR (DE);  
SALCHER OLGA DR (DE)

**Applicant:** BAYER AG (DE)

**Classification:**

**- international:** **C07D313/00; C12P17/08; C07D313/00; C12P17/02;**  
(IPC1-7): A01N29/00; A01N37/00; A01N43/64;  
A01N43/707; A01N47/10; A01N47/30; A01N47/36;  
A01N57/10; C12N1/20; A01N43/22; A01N63/02;  
A61K31/365; C07D313/00; C12P17/08; G01N33/15;  
C12N1/20; C12R1/545

**- European:** C07D313/00; C12P17/08; C12R1/545

**Application number:** DE19863607287 19860306

**Priority number(s):** DE19863607287 19860306

**Report a data error here**

### Abstract of **DE3607287**

The invention relates to a process for the preparation of the macrolide antibiotic borrelidin by an essentially microbiological route and to the use of borrelidin for controlling animal pests and weeds.

---

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



## Result Page

Notice: This translation is produced by an automated process; it is intended only to make the technical content of the original document sufficiently clear in the target language. This service is not a replacement for professional translation services. The esp@cenet® Terms and Conditions of use are also applicable to the use of the translation tool and the results derived therefrom.

The available invention concerns the new use that already admitted connection Borrelidin as pesticide, preferably to the fight against animal parasites, in particular Arthropoden as well as to the fight against weeds. Further the available invention concerns a new procedure for the production of Borrelidin on essentially micro-biological way.

Borrelidin, its mikrobielle production from different Streptomyceten kinds and its antibacterial and antiviral effectiveness are already admit (see. Berger, J. and. M. W. Gold mountain: J. Clin. Invest. 28, 1046 [1949], Jampolski, L. M. and. M. W. Gold mountain: Arch. Biochem. 22, 476 [1949], bend, M. et al.: Trans. N. Y. Acad. Sci. Ser. II 11, 207 [1948-1949], Jampolski, L. M. and. M. W. Gold mountain: J. Clin. Invest. 28, 1046 [1949], Hütter, R. et al.: Biochem. Zeitschr. 344, 190 [1966], cellar ski flax, W.: Experientia 22, 355 [1966], cellar ski flax, W.: Helv. Chim. Acta 50, 731 [1967], Zoepel, P. et al.: Z. General one Mikrobiol. 13, 711 [1973], Eckhardt, K. et al.: Z. General one Mikrobiol. 10, 367 [1970], wet, G.: Zentralbl. Bakteriol., Parasitenk., Infektionskr. Hyg., abt 1: Orig. 212, 239 [1970], Poralla, K. and. H. Zähler: Arch. Mikrobiol. 61, 143 [1968], Hirakawa, T. et al.: Agr. Biol.Chem. 38, 85 [1974]).

It was now found that the Borrelidin of the formula  
EMI4.1

for the fight against animal parasites with plants, animals and materials as well as for the fight against weeds to be used can. It exhibits in particular a high effectiveness against Arthropoden (like insects and Arachnid) and beyond that also herbicides characteristics. Borrelidin and this connection containing means can be used due to these characteristics particularly favourably in plant protection, supply protection, in the hygiene range as well as into animal breeding and animal husbandry.

Further it was found that Borrelidin will receive can, if one the new Streptomyces griseus, trunk BS 1325 or its variants and Mutanten, which exhibit the characteristics substantial for the execution of the available invention, in usual way in a growth medium, contains which assimilatable carbon and sources of nitrogen as well as mineral salts, under aerobes conditions cultivated and the desired connection isolates according to usual methods.

The trunk BS 1325 (DSM 3605) was deposited with the German collection by micro organisms (DSM), Grisebachstrasse 8, 3400 Goettingen, Federal Republic of Germany:  
EMI5.1

### Description of the trunk BS 1325

The trunk BS 1325 originates from an earth sample from New Zealand and with appropriate selection methods for the production from Streptomyceten was isolated.

The regulation took place after R. Hütter: Systematics of the Streptomyceten, meager publishing house, Basel 1967, T. G. Pridham and H. D. Tresner Streptomycetaceae, in Bergey's manual OF determinative Bacteriology, 8. Edition 1974, Williams & Wilkins complete one. Baltimore, as well as internationally journal OF systematics Bacteriology 16, 313-340 (1966) and The Procaryotes 2, 2128-2090 (1981).



### Description of the trunk BS 1325

Sporenoberfläche: smoothly

Sporengrosse (average): 1,8-2,4  $\mu$  m to 0,9-1,2  $\mu$  m

Color of the Luftmycel: yellow; in particular on ISP medium No. 2. (Griseus type) (see. in addition internationally journal OF systematics Bacteriology 16, 313-340 [1966])

Sporenketten morphology: The Sporenketten is straight or easily curved (Griseus type; see. the above-mentioned literature)

no Melaninbildung

Use of different C-sources D-glucose + L-Arabinose + Saccharose + D-Xylose + meso Inosit - D-Mannit + D-Fructose + L-Rhamnose + Raffinose + Galactose + control (without C-source) - (?? utilization means and? - ?no utilization means).

The trunk BS 1325 is to be regarded due to the Luftmyzelfarbe as typical representatives of the Griseus group under the Streptomyceten.

Usable the according to invention Borrelidin can be received also according to the well-known methods by fermentation of the well-known trunks Streptomyces parvulus DSM 40,728 and Streptomyces rochei to DSM 40,231.

On the basis extensive analytic, in particular spectroscopic investigations (Dünnschichtchromatographie, mass spectrum, UV, IR,  $^1\text{H}$ -NMR and  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra) was found that producible the according to invention and usable connection is identical to the before-well-known Borrelidin.



As already describes, Borrelidin becomes according to invention by the fermentation of the trunk *Streptomyces griseus* BS 1325 (DSM 3605) or its Mutanten and variants produced.

The fermentation procedure according to invention can be accomplished with the help of firm, semisolid or liquid growth media. Preferred aqueous-liquid growth media are used.

The inoculation of the growth media takes place according to generally usual methods, z. B. over diagonal tubes or piston cultures.

The culture effected under aerobes conditions and can in accordance with the generally usual methods as using vibration cultures z. B. in vibration pistons, by air-moved cultures or by Submerskulturen to be accomplished. Preferred cultivation takes place in aerobes the Submersverfahren in ventilated fermenters, z. B. in usual Submersfermentationstanks. It is possible to accomplish the cultures continuously or intermittent. Preferably intermittent one works.

The culture can be accomplished in all growth media, which well-known-proves Actinomycetales for the cultivation of micro organisms of the order is used. The growth medium must contain one or more assimilatable sources of carbon and sources of nitrogen as well as mineral salts, whereby these products in the form of defined single components, in addition, in the form of complex mixtures, as they represent in particular biological products of different origin, to be present to be able. As sources of carbon all usual sources of carbon are applicable. For example coal hydrates, in particular Polysaccharide, are mentioned like strength or Dextrine, Disaccharide, like Maltose or Rohrzucker, Monosaccharide, like Glycose or Xylose, sugar alcohols, like Mannit or Glycerin as well as naturally occurring mixtures such as Malzextrakt, molasses or whey powder. As sources of nitrogen all usual organic and inorganic sources of nitrogen are applicable. For example protein materials, protein hydrolysates, are amino acids, like glow amine acid, asparagine acid, arginin, Lysin, Ornithin or series, Nucleosidbasen, like cytosine or uracil as well as soy bean flour, cotton seed flour, lens flour, pea flour, soluble and insoluble, vegetable proteins, corn spring waters, yeast excerpt, Peptone and meat excerpt as well as ammonium salts and nitrate, z. B.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{KNO}_3$  specified. The mineral salts, which should be contained in the growth medium, supply z. B. the following ions:  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{--}$ ,  $\text{PO}_4^{--}$  and  $\text{NO}_3^-$  as well as ions of the usual trace elements, like Cu, Fe, Mn, Mo, Zn, CO, never. If carbon or sources of nitrogen and/or. the used water not sufficiently these salts and/or. Trace elements contained, it is appropriate to supplement the growth medium accordingly. The composition of the growth media can be varied within wide ranges. Kind and composition of the growth media will be dependent generally on which components are available particularly in each case favorably. Generally contain the nutritive solutions mean preferably about 0.5 to 8%, in particular 0.6 to 6% sources of carbon, preferably about 0.5 to 4%, in particular 0.5 to 2% sources of nitrogen and preferably about 0.001 to 0.5%, in particular 0.003 to 0.3% mineral salts.

At the time of the execution of the procedure it can be favorable to use at the beginning of cultivation only relatively small concentrations of the soluble nutritive solution components and then in the course first 3 cultivation days by more frequent additives these components in form more sterile, relatively concentrated solution the culture beginning fractionated zuzufüttern.

The pH value of the increasing cultures should be preferably held between approximately 5 and about 10, in particular between 6,5 and 9,5. A too strong pH waste within the sour ranges can be preferably avoided by additives of an organic or inorganic cousin, by  $\text{CaCO}_3$ . As usual in the fermentation technology, also an automatic pH adjustment can be accomplished, with the sterile organic or inorganic acid, z. B.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , or sterile caustic solution, z. B.  $\text{NaOH}$  is injected in distances into the culture solution.

It is appropriate to guarantee that the micro organisms are brought sufficiently with oxygen as well as the nutrients in contact. This can take place according to the generally usual methods such as a vibrating and an agitating.

The breeding temperature can lie between approximately 15 and about 38 DEG C, preferably between 20 and 35 DEG C, particularly preferentially lies it with approximately 28 DEG C. The duration of breeding can be strongly varied, whereby z. B. the composition of the growth medium and the breeding temperature a role play. The respective optimal conditions can be easily specified by each specialist on the micro-biological area.

It turned out that the quantity reaches in the Kulturbrühe enriching connection according to invention generally its maximum about 1 to 10, preferably about 4 to 7 days after beginning of breeding. The desired final product of the fermentation can be determined by dünnschichtchromatographischen investigations, in the disk diffusion test with a suitable microorganism as test trunk or on the basis insecticides the effectiveness.

As generally with micro-biological procedures foreign infections of the culture media should be avoided. For this the usual precautions are taken, like sterilization of the growth media, the culture containers as well as air necessary for the ventilation. For the sterilization of the devices z can. B. steam and the drying sterilization to be used, whereby the temperature preferably about 100 to 140 DEG C, in particular with 120 to 130 DEG C to be to be able.

If during cultivation in unwanted quantity foam develops, the usual chemical foam damping media, z can. B. liquid fats and oils, oil/water emulsions, paraffins, higher alcohols, like Octadecanol, silicone oils, Polyoxyethylen and/or. Polyoxypropylenverbindungen (z. B. in quantities to approximately 1%) to be added. Foam can also with the help of the usual mechanical devices (which z. B. Centrifugal energy use) to be absorbed or eliminated.

Available the according to invention connection can be isolated from the culture medium according to generally usual physicochemical methods. The isolation knows z. B. in accordance with the usual Extraktionsverfahren, precipitation procedures and/or chromatography procedures take place. The isolated material can be also fine-cleaned with the help of the methods mentioned. For many cases however a fine cleaning is not necessary, since the effectiveness of the connection does not affect existing slight impurities if necessary unfavorably.

With the isolation and cleaning operations it is to be made certain that the pH values lie in the sour or neutral range. Preferably pH values between 3 and 6 are kept, whereby for adjustment the pH value inorganic acids, like hydrochloric acid and organic acids, as acetic acid can be used.

In order to find with the isolation and cleaning methods indicated above the parliamentary groups out, in which available the according to invention connection in highest concentration and/or. Purity is present, can the usual physicochemical methods, z. B. Measure a characteristic gang in the spectrum or the Rf-values, determination of the antimicrobial activity etc. are consulted.

The isolation and cleaning usable of the according to invention connection know z. B. if a liquid aqueous growth medium is used, as follows to be made:

Since the active substance is to be found both in the culture projection, and to the Myzel, becomes appropriately the connection is adsorbed by usual Extraktionsverfahren, precipitation procedures and/or chromatography procedure from the fermentation beginning isolates and if necessary cleaned. The chromatography can be accomplished in form of the Säulenchromatographie. As adsorbents the usual inorganic or organic adsorbents can be used, like z. B. Alumina, silicagel, Magnesiumsilikat, activated charcoal, cellulose, cellulose derivatives, synthetic resins such as PP, z. B. acetylated PP, Dextrangele or modified Dextrangele. As Laufmittel the most diverse solvents or solvent mixtures can be used, in which the connection according to invention is soluble. Preferred if solvents are inserted such as acetic acid ethyl esters, chloroform and methanol or their mixtures (for example mixtures from chloroform and methanol or from acetic acid ethyl ester and chloroform), also with organic acids, in particular acetic acid, to be shifted to be able.

Preferred for the isolation of the Borrelidin chromatography procedures is used, z. B. nonspecific adsorption at Sorbentien such as silicagel or on the other hand gel diffusion chromatography. These are ago the methods well-known of the cleaning of badly water-soluble natural substances.

From its solutions usable the according to invention connection can according to the usual methods, z. B. Evaporate the solvent, to freezing drying process etc. are received.

In a preferential execution form of the invention with the aerobes culture of the trunks becomes with approximately 27 DEG C received fermentation property (Kulturbrühe and Mycel) with a polar solvent, as acetic acid ethyl ester extracts 3mal several times, preferably. From the excerpt the solvent (preferably in the vacuum with approximately 20 DEG C) is abdestilliert.

The active substance raw product is subjected afterwards to a präparativen fractionated Säulenchromatographie. As chromatography material here Sephadex LH-20 is preferred. Preferential Eluenten is chloroform, methanol or mixtures of polar solvents. The Borrelidin containing parliamentary groups can be specified easily on the basis dünnenschichtchromatographischer investigations. In this way the raw active substance parliamentary group is received.

A fine cleaning of in this way received (already quite pure) product takes place appropriately via a präparative Säulenchromatographie with usual devices, whereby as wadding preferably usual ?reversed phase? - materials, how with paraffin modified silicagel and as Eluente preferably/water mixtures serves methanol.

Due to its favorable biological characteristics Borrelidin can be used as pesticides for the fight against animal pests, food pests and material parasites (preferably pests), whereby in particular insects and Arachnids are seized.

Beyond that also the fight against Ektoparasiten (like insects and Acarinen) is possible with Warmblütern, in particular in animal breeding and animal husbandry by Borrelidin.

These ranges of application are described in the following:

As examples of the fightable Arthropoden are mentioned:

From the order of the Isopoda z. B. Oniscus asellus, Armadillidium vulgare, Porcellio more scaber.

From the order of the Diplopoda z. B. Blaniulus guttulatus.

From the order of the Chilopoda z. B. Geophilus carpophagus, Scutigera spec.

From the order of the Symphyla z. B. Scutigera immaculata.

From the order of the Thysanura z. B. Lepisma saccharina.

From the order of the Collembola z. B. Onychirus armatus.

From the order of the Orthoptera z. B. Blatta orientalis, Periplaneta americana, Leucophaea maderae, Blattella germanica, Acheta domesticus, Gryllotalpa spp., Locusta migratoria migratorioides, Melanoplus differentialis, Schistocerca gregaria.

From the order of the Dermaptera z. B. Forficula auricularia.

From the order of the Isoptera z. B. Reticulitermes spp.

From the order of the Anoplura z. B. Phylloxera vastatrix, Pemphigus spp., Pediculus humanus corporis, Haematopinus spp., Linognathus spp.

From the order of the Mallophaga z. B. Trichodectes spp., Damalinae spp.

From the order of the Thysanoptera z. B. Hercinothrips femoralis, Thrips tabaci.

From the order of the Heteroptera z. B. Eurygaster spp., Dysdercus intermedius, Piesma quadrata, Cimex lectularius, Rhodnius prolixus, Triatoma spp.

From the order of the Homoptera z. B. Aleurodes brassicae, Bemisia tabaci, Trialeurodes vaporariorum, Aphis gossypii, Brevicoryne brassicae, Cryptomyzus ribis, Aphis fabae, Doralis pomi, Eriosoma lanigerum, Hyalopterus arundinis, Macrosiphum avenae, Myzus spp., Phorodon humuli, Rhopalosiphum padi, Empoasca spp., Euscelis bilobatus, Nephrotettix cincticeps, Lecanium corni, Saissetia oleae, Laodelphax striatellus, Nilaparvata of peeping, Aonidiella aurantii, Aspidiotus hederarum, Pseudococcus spp. Psylla spp.

From the order of the Lepidoptera z. B. Pectinophora gossypiella, Bupalus piniarius, Cheimantobia brumata, Lithocolletis blancardella, Hyponomeuta padella, Plutella maculipennis, Malacosoma neustria, Euproctis chrysorrhoea, Lymantria spp. Bucculatrix thurberiella, Phyllocnistis citrella, Agrotis spp., Euxoa spp., Feltia spp., Earias insulana, Heliothis spp., Spodoptera exigua, Mamestra brassicae, Panolis flammea, Prodenia litura, Spodoptera spp., Trichoplusia never, Carpocapsa pomonella, Pieris spp., Chilo spp., Pyrausta nubilalis, Ephestia kuehniella, Galleria mellonella, Tineola bisselliella, Tinea pellionella, Hofmannophila pseudospretella, Cacoecia podana, Capua reticulana, Choristoneura fumiferana, Clysia ambiguella, Homona magnanima, Tortrix viridana.

From the order of the Coleoptera z. B. Anobium punctatum, Rhizophorthera dominica, Acanthoscelides obtectus,

Acanthoscelides obtectus, Hylotrupes bajulus, Agelastica alni, Leptinotarsa decemlineata, Phaeton cochleariae, Diabrotica spp., Psylliodes chrysocephala, Epilachna varivestis, Atomaria spp., Oryzaephilus surinamensis, Anthonomus spp., Sitophilus spp., Otiorrhynchus sulcatus, Cosmopolites sordidus, Ceuthorrhynchus assimilis, Hypera postica, Dermestes spp., Trogoderma spp., Anthrenus spp., Attagenus spp., Lyctus spp., Meligethes aeneus, Ptinus spp., Niptus hololeucus, Gibbium of psyllioides, Tribolium spp., Tenebrio molitor, Agriotes spp., Conoderus spp., Melolontha melolontha, Amphimallon solstitialis, Cosstelytra zealandica.

From the order of the Hymenoptera z. B. Diprion spp., Hoplocampa spp., Lasius spp., Monomorium pharaonis, Vespa spp.

From the order of the Diptera z. B. Aedes spp., Anopheles spp., Culex spp., Drosophila more melanogaster, Musca spp., Fannia spp., Calliphora erythrocephala, Lucilia spp., Chrysomyia spp., Cuterebra spp., Gastrophilus spp., Hyppobosca spp., Stromoxys spp., Oestrus spp., Hypoderma spp., Tabanus spp., Tannia spp., Bibio hortulanus, Oscinella frit, Phorbia spp., Pegomyia hyoscyami, Ceratitis capitata, Dacus oleae, Tipula paludosa.

From the order of the Siphonaptera z. B. Xenopsylla cheopis, Ceratophyllus spp.

From the order of the Arachnida z. B. Scorpio maurus, Latrodectus mactans.

From the order of the Acarina z. B. Acarus siro, Argas spp., Ornithodoros spp., Dermanyssus gallinae, Eriophyes ribis, Phyllocoptura oleivora, Boophilus spp., Rhipicephalus spp., Amblyomma spp., Hyalomma spp., Ixodes spp., Psoroptes spp., Chorioptes spp., Sarcoptes spp., Tarsonemus spp., Bryobia praetiosa, Panonychus spp., Tetranychus spp.

Usable the according to invention active substance can be present for the fight of the animal parasites in commercial formulations as well as in out these formulations prepared application forms in mixture with other active substances, as insecticides, lure open, Sterilantien, Akariziden, Nematiziden, fungicides, growth-adjusting materials or herbicides. Among the insecticides for example phosphoric acid esters, Carbamate, carbonic acid ester, rank chlorinated hydrocarbons, Phenylharnstoffe, by micro organisms manufactured materials and. A.

Furthermore the active substance can be present in commercial formulations as well as in out these formulations prepared application forms in mixture with Synergisten. Synergisten are connections, by which the effect of the active substances is increased, without the added Synergist must be actively effective.

The active substance content of the application forms prepared from the commercial formulations can vary within wide ranges. The active substance concentration of the application forms can from 0,0000001 to 95 Gew. - % active substance, preferably between 0,0001 and 1 Gew. - % lie.

Application happens in the application forms adapted a usual way.

With application against hygiene and food pests the active substance is characterised by a outstanding Residualwirkung on wood and clay/tone as well as by a good alkali stability on limewashed documents.

Usable the according to invention active substance is suitable also for the fight against Arthropoden, the agricultural utilizable animals, like z. B. Cattle, sheep, goats, horses, pigs, donkey, camels, buffalo, rabbit, chickens, Puten, ducks, geese, bees, other domestic animals such as z. B. Dogs, cats, room birds, aquarium fish as well as so-called. Experimental animals, like z. B. Hamsters, guinea pigs, rats and mice strike.

Deaths and production lags (with meat, milk, wool, skins, eggs, honey etc.) are to be decreased by the fight of these Arthropoden, so that by the employment of the active substance a more economical animal husbandry is possible.

The application usable of the according to invention active substance happens in the veterinarian sector in well-known way with dermal application in form for example dipping or bathing (Dippen), spraying (spray), Aufgiessens (Pour on and Spot on), washing, the Einpuderns as well as by wirkstoffhaltigen molded articles, like collars, ear marks, tail marks, Gliessmapenbändern, Halftern, marking devices etc.

Usable the according to invention active substance exhibits also good herbicides characteristics with suitable expenditure quantity and can as Defoliant, Desiccant, herb killing means and as weed killers be used in particular. By weeds in the broadest sense all plants are to be understood, which grow up at places, where they are unwanted. Whether the active substance works as total or selective herbicide, essentially depends on the applied quantity.

The active substance knows z. B. with the following plants to be used:

Dikotyle of weeds of the kinds

Sinapis, Lepidium, Galium, Stellaria, Matricaria, Anthemis, Galinsoga, Chenopodium, Urtica, Senecio, Amaranthus, Portulaca, Xanthium, Convolvulus, Ipomoea, Polygonum, Sesbania, Ambrosia, Cirsium, Carduus, Sonchus, Solanum, Rorippa, Rotala, Lindernia, Lamium, Veronica, Abutilon, Emex, Datura, Viola, Galeopsis, Centaurea.

Dikotyle cultures of the kinds

Gossypium, glycines, beta, Daucus, Phaseolus, Pisum, Solanum, Linum, Ipomoea, Vicia, Nicotiana, Lycopersicon, Arachis, Brassica, Lactuca, Cucumis, Cucurbita.

Monokotyle of weeds of the kinds

Echinochloa, Setaria, Panicum, Digitaria, Phleum, Poa, Festuca, Eleusine, Brachiaria, Lolium, Bromus, Avena, Cyperus, Sorghum Agropyron, Cynodon, Monochoria, Fimbristylis, Sagittaria, Eleocharis, Scirpus, Paspalum, Ischaemum, Sphenoclea, Dactyloctenium, Agrostis, Alopecurus, Apera.

Monokotyle cultures of the kinds

Oryza, Zea, Triticum, Hordeum, Avena, Secale, Sorghum, Panicum, Saccharum, pineapple, Asparagus, Allium.

The use of the active substance is limited however by no means to the kinds, but extends in the same way also to other plants.

The connection is suitable as a function of the concentration for the total weed control z. B. on industrie and railway



tracks and at ways and places with and without tree vegetation. Likewise the connection to the weed control in continuous cultures, z. B. Forest, ornamental shrub, fruit, wine, Citrus, nut, banana, coffee, rubber, Ölpalm, cocoa, potato berry and hop plants and for selective weed control into one year's cultures to be used.

Usable the according to invention active substance can find to herbicides for the reaching of the effect as such or in its formulations also in mixture with well-known herbicides for weed control use, whereby finished formulations or tank mixtures are possible.

For the mixtures well-known herbicides come such as z. B. 1-Amino-6-ethylthio-3 (2,2-dimethylpropyl) - 1,3,5-triazin 2,4 (1H, 3H) - dion or n (2-Benzthiazolyl) - N, N dimethyl urea for weed control in grain; 4-Amino-3-methyl-6-phenyl-1,2,4-triazin-5 (4H) - on for weed control in sugar beets and 4-Amino-6 (1,1-dimethylethyl) - 3-methylthio-1,2,4-triazin-5 (4H) - on for weed control in soy beans, in question. Some mixtures show surprisingly also synergistic effect.

Also a mixture with other well-known active substances, like fungicides, insecticides, Akariziden, Nematiziden, protective agents bird-ate approximately, from plant nutrients and soil structure improvement means is possible.

The active substance can be used as such, in form of its formulations or the application forms, like ready for use solutions, prepared from it by further diluting, suspensions, emulsions, powders, pastes and granulates. Application happens in usual way, z. B. by pouring, syringe, spraying, strewing.

The active substance can be appliziert both before and after accumulating the plants.

It can be trained also before the seed into the soil.

The applied active substance quantity can vary with the use as herbicide within a larger range. It essentially depends on the kind of the desired effect. Generally the expenditure quantities lie between 0,01 and 15 kg active substance per hectare of floor space, preferably between 0,05 and 10 kg per hectar.

The active substance can be transferred for the indicated purposes into the usual formulations, like solutions, emulsions, suspensions, powder, foam, pastes, of granulates, of aerosols, active substance-impregnated nature and synthetic materials, purifying encapsulations in polymere materials and in cladding masses for seeds.

These formulations are manufactured in well-known way, z. B. by mixing the active substance with stretching means, thus liquid solvents, under pressure standing liquefied gases and/or firm carrier materials, if necessary using surface-active means, thus emulsifying means and/or dispersing agents and/or foam-producing means. In case of the use of water as stretching means z. B. also organic solvents as auxiliary solvents to be used. As liquid solvents are essentially applicable: Aromatics, like xylene, toluol, or alkyl naphtha LINE, aromatics or chlorinated aliphatic hydrocarbons, like chlorine benzene, Chlorethylene or dichloromethane, z. chlorinated aliphatic hydrocarbons, like cyclohexane or paraffins. B.Erdölfraktionen, alcohols, like Butanol or glycol as well as their Ether and ester, Ketone, like acetone, Methylethylketon, Methylisobutylketon or Cyclohexanon, strongly polar solvents, like dimethylformamide and Dimethylsulfoxid, as well as water; with liquefied gaseous stretching means or carrier materials such liquids are meant, which are gaseous under normal print at normal temperature and, z. B. Aerosol propulsion gas, like halogen hydrocarbons as well as butane, propane, nitrogen and carbon dioxide; as firm carrier materials are applicable: z. B. natural powdered minerals, like Kaoline, aluminas, talcum powder, chalk, quartz, Attapulgit, Montmorillonit or Diatomeenerde and synthetic powdered minerals, like hochdisperse silicic acid, alumina and silicates; as firm carrier materials for granulates are applicable: z. B. broken and fractionated natural rocks such as Calcit, marble, pumice, Sepiolith, dolomite as well as synthetic granulates from inorganic and organic flours as well as granulates from organic material such as Sägemehl, coconut bowls, ears of corn and tobacco stacks; as emulsify and/or foam-producing means are applicable: z. B. nichtionogene and anionische emulsifying agents, like Polyoxyethylen fatty acid ester, Polyoxyethylen Fettalkohol Ether, z. B. Alkylarylpolyglykol Ether, Alkylsulfonate, alkyl sulfates, Arylsulfonate as well as protein hydrolysates; as dispersing agents are applicable: z. B. Lignin Sulfitablaugen and methyl cellulose.

Bonding agents can be used such as Carboxymethylcellulose, natural and synthetic powdery, granular or latexförmige polymers, like Gummiarabicum, polyvinyl alcohol, Polyvinylacetat, as well as natural Phospholipide, like Kephaline and Lecithine, and synthetic Phospholipide in the formulations. Further additives can be mineral and vegetable oils.

Coloring materials can do like inorganic pigments, z. B. Ferric oxide, titanium oxide, ferrous cyan blue and organic coloring materials, like alizarine, Azo and Metallphthalocyaninfarbstoffe and trace nutrients such as salts by iron, manganese, boron, copper, cobalt, molybdenum and zinc to be used.

The formulations contain generally between 0,1 and 95 weight percentage active substance, preferably between 0,5 and 90%.

The particularly preferred range of application according to invention of Borrelidin lies in its use for the fight against animal parasits in the ranges plant protection, supply protection and hygiene, preferably in plant protection and supply protection, particularly preferentially in plant protection, as well as in its use as herbicide. The preferential pesticides contain an surface-active material as well as at least a liquid or firm diluent except the active substance (and if necessary further active substances) always at least.

The effectiveness of the Borrelidin for the ranges of application according to invention is to be described on the basis the following examples:

#### Example A

Test with *Lucilia cuprina* (org. Phosphoric acid ester resistant larvae)  
Emulsifying agent: 35 parts by weight Ethylenglykolmonomethylether  
35 parts by weight Nonylphenolpolyglykolether

For the production of an appropriate active substance preparation one mixes three parts by weight active substance with seven parts by weight of the mixture indicated above and dilutes in such a way received concentrate with water on the

concentration wished in each case.

About 20 *Lucilia cuprina* res. - Larvae are brought into a test tube, which approx. 1 g horse meat and 0.5 ml the active substance preparation contains. After 24 hours the killing degree is determined.

With this test Borrelidin showed a killing degree of 100% with an exemplary concentration of 0,01%.

#### Example B

Test with *Psoroptes ovis*

Emulsifying agent: 35 parts by weight Ethylenglykolmonomethylether  
35 parts by weight Nonylphenolpolyglykoether

For the production of an appropriate active substance preparation one mixes three parts by weight active substance with seven parts by weight of the mixture indicated above and dilutes in such a way received concentrate with water on the desired concentration.

About 10-25 *Psoroptes ovis* are brought to the active substance preparation which can be tested in 1 ml, which were pipetted into tablet nests of a deep-drawing packing. After 24 hours the killing degree is determined.

With this test Borrelidin showed a killing degree of 100% with an exemplary concentration of 0,1%.

#### Example C

Test with *Boophilus microplus* resistant

Solvent: 35 parts by weight Ethylenglykolmonomethylether  
35 parts by weight Nonylphenolpolyglykoether

For the production of an appropriate active substance preparation one mixes three parts by weight active substance with seven parts by weight of the solvent mixture indicated above and dilutes in such a way received concentrate with water on the desired concentration.

10 *Boophilus adulte microplus* res. into the active substance preparation which can be tested 1 minute are dipped. According to transfer in plastic cups and keeping in an air-conditioned area the killing degree is determined.

With this test Borrelidin showed a killing degree of more than 50% with an exemplary concentration of 0,03%.

#### Example D

*Tetranychus* test

Solvent: 3 parts by weight acetone emulsifying agent: 1 part by weight Alkylarylpolyglykoether

For the production of an appropriate active substance preparation one mixes 1 part by weight active substance with the indicated quantity of solvents and the indicated quantity emulsifying agent and dilutes the concentrate with water on the desired concentration.

Bohnenpflanzen (*Phaseolus vulgaris*), which with approximately 100 eggs that bean spin mite (*Tetranychus urticae*) are occupied, by dipping into the active substance preparation of the desired concentration are treated.

According to the desired time killing in % is determined. With the fact 100% mean that all Individuen in the egg or in the larva stage was killed; 0% mean that from all eggs adulte spider mites could develop.

With this test the Borrelidin showed a killing of 100% with an exemplary concentration of 0,004%, with good plant compatibility.

#### Example E

Development-restrained with *Dysdercus intermedius* (cotton cap bug)

Solvent: 3 parts by weight acetone emulsifying agent: 1 part by weight Alkylarylpolyglykoether

For the production of an appropriate active substance preparation one mixes 1 part by weight active substance with the indicated quantity of solvents and the indicated quantity emulsifying agent and dilutes the concentrate with water on the desired concentration.

In plastic doses 10 Nymphen each are offered to the cotton cap bug some cotton seeds and a Watteröllchen soaked with the active substance preparation. According to the desired time killing in % is determined.

With this test the Borrelidin caused a 100%ige killing with an exemplary concentration of 0,1%.

#### Example F

Development-restrained with *Ceratitis capitata* (Mediterranean fruit fly)

Solvent: 3 parts by weight acetone emulsifying agent: 1 part by weight Alkylarylpolyglykoether

For the production of an appropriate active substance preparation one mixes 1 part by weight active substance with the indicated quantity of solvents and the indicated quantity emulsifying agent and dilutes the concentrate with water on the desired concentration.

20 eggs each of the Mediterranean fruit fly are put on art fodder mash in Dö. The fodder is treated with active substance in the indicated concentration. The sum of the killed eggs, larvae, dolls and Imagines related to the number of assigned eggs results in killing in %.

With the fact 100% mean that all animals were killed; 0% mean that no animals were killed.

With this test the active substance showed a 100%ige killing with an exemplary concentration of 0,00016%.

#### Example G

## Post office emergence Test/Vermiculite

In bowls, which are filled with Vermiculite, seeds are laid out by different weeds. The bowls are then poured with a Hoagland nutritive solution, until the plants reached a size of 5 to 10 cm.

Then the plants with an active substance preparation are squirted.

After 2 weeks the damage degree of the plants bonitiert in % damage in the comparison to the development of untreated control.

Borrelidin shows a high effectiveness, how is shown by the following table.  
EMI32.1

The procedure according to invention for the production of Borrelidin with the help of the trunk BS 1325 is to be described on the basis the following examples:

### I. Example of the fermentation of the trunk BS 1325

#### I.1 fermentation of the trunk BS 1325

The trunk BS 1325 is held with approximately 4 DEG C in the refrigerating chamber on a diagonal agar tube. The hectar agar for this used contains per litre of 4 g yeast excerpt, 10 g Malz, 4 g Dextrose and 15 g agar (remainder: Water) and has a pH value of 7,3. Sporenlösungen of the trunk BS 1325 are kept with -20 DEG C.

For the fermentation a nutritive solution is used, which, except tap water, contains 1.5% skimmed milk (peptonisiert), 0.15% Hefeautolysat (Ohly), 4.5% Dextrin and 0.5% glucose and exhibits a pH value of 7,0.

##### a) Execution in the piston yardstick

1000-ml-Erlenmeyerkolben, which contain 150 ml nutritive solution, are inoculated from a diagonal agar culture and on the rotary mechanical shaker with 280 RPM (revolutions per minute) and 28 DEG C for 4 to 5 days inkubiert. As Vorkultur for the 30-l-Fermenter an old culture serves 48 h.

##### b) Execution in the 30-l-Fermenter

The fermentation is accomplished in a 30-l-Fermenter, the 20 l nutritive solution, which contains 1.5% skimmed milk (peptonisiert), 0.15% Hefeautolysat (Ohly), 4.5% Dextrin and 0.5% glucose except tap water. The sterilization takes place for 30 min with 121 DEG C. With 28 DEG C Inkubationstemperatur and 400 RPM of the agitator are introduced 20 l air per minute into the culture liquid. The inoculation quantity amounts to 10% of the culture described under A).

The harvest takes place after approximately. 96 to 120 hours.

#### I.2 of examples of the processing of the Kulturbrühen received in accordance with I.1

##### a) Production of the active substance raw excerpt solution

The fermentation property is shifted with same volumes acetone and agitated intensively. Subsequently, the firm cell and fertile soil components are separated by Zentrifugation, the acetone is taken off in the high vacuum with 20 DEG C and the aqueous arrears are stopped to pH 3 and shifted with same volume ethyl acetate and agitated intensively. The organic phase is separated by means of suitable separate ion procedures and in the high vacuum with 20 DEG C about. 8 g oily raw product restricted. The aqueous phase is rejected.

##### b) Rough cleaning of the active substance raw excerpt

These 8 g raw excerpt become at Sephadex LH-20 (column 50 x 1000 mm) with methanol chromatography ore.

Due to DC control the following parliamentary groups (Fr.) were combined and the solvent was abdestilliert: Fr. 1-19 (0.2 bed volumes) 1.5 g lipophilic Begleitsubstanzen with negligible active substance portion.

Fr. 20-50 (0.2-0.8 bed volumes) 0.9 g raw product (active substance main part)

Fr. 51-200 (0.8-2.3 bed volumes) 5 g polar Begleitsubstanzen with neglected active substance portion

##### c) Fine cleaning of the active substance

###### RP 8-Säule (reserved phase)

0.9 g enriched active substance parliamentary group from Fr. 20-50 is solved in 2 ml methanol and at silanisiertem silicagel 60 (LiChroprep RP 8, 40-63  $\mu$  m, lobarly finished column quantity B, company E. Merck, Darmstadt) with methanol/water 40: 10) chromatography ore. Fr. 1-32 (1.2 bed volumes) 0.1 g hydrophilic Begleitsubstanzen

Fr. 33-52 (1.2-1.9 bed volumes) 0.58 g active substance main parliamentary group.

starting from Fr. 53 (starting from 1,9 bed volumes) 1.5 g lipophilic Begleitsubstanzen.

Dünnschichtchromatographische control (DC control) takes place on MERCK DS finished plates silicagel 60 F 254, layer thickness 0.25 mm, in the run central system  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$  (9: 1) (Volume. - Parts).

The product can be proven by UV (254 Nm), spraying with Anisaldehyd/ $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

### II. Examples of the fermentation of the well-known trunk *Streptomyces parvulus* DSM 40,728

#### II.1 fermentation of the trunk *Streptomyces parvulus* DSM 40,728

The trunk *Streptomyces parvulus* DSM 40,728 is held with +4 DEG C as master canned goods on a diagonal agar tube. The hectar agar for this used contains per litre of 4 g yeast excerpt, 10 g Malz, 4 g Dextrose and 15 g agar (remainder: Water) and has a pH value of 7,3. Sporenlösungen of the trunk are kept with -20 DEG C.

For the fermentation a nutritive solution is used, which, except tap water, contains 20 g full-firm Sojamehl and 20 g Mannit and exhibits a pH value of 7,5.



a) Execution in the vibration piston yardstick

1000-ml-Erlenmeyerkolben, which contain 120 ml nutritive solution, are inoculated from a diagonal agar culture and inkubiert on a rotary mechanical shaker with 280 RPM/revolutions per minute and 27 DEG C for 96 hours.

As Vorkultur for a 15-l-Fermenter an old Vorkultur serves 72 hours.

b) Execution in the 15-l-Fermenter

The fermentation is accomplished in a 15-l-Fermenter, which contains 10 l nutritive solution, as described above. The sterilization takes place for 20 minutes with 121 DEG C. With 27 DEG C Inkubationstemperatur and 500 RPM of the sheet agitator are introduced 5 l air per minute into the culture liquid. The inoculation property quantity amounts to 10% of the culture described under A). The harvest of the culture suspension takes place after 96 hours. The culture suspension contains Borrelidin.

II.2 isolation and cleaning of Borrelidin

Borrelidin is isolated from a culture suspension, which became to receive II.1 in accordance with a fermentation after example, as follows:

By Zentrifugation from 10 l culture suspension 1 kg and 9 l culture projection will receive wet Myzel.

The culture projection becomes with konz. H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> to pH = 3 adjusted and with 5 l/h to 10 x 40 cm leva pole acid laid on. On the same column the aqueous arrears of the acetone extract (3 l acetone begun) of the Myzels are laid on.

The run and 20 l washing water of the leva pole column are rejected, the methanol Desorbat of the leva pole column is caught and to dry ones restricted and results in 13 g raw product.

13 g raw product are extracted first with 250 ml n-hexane for the separation by fats and afterwards with 250 ml Dichlormethan. The Dichlormethanextrakt is restricted on 20 ml and at a Sephadex LH 20-column (5 x 100 cm) with Dichlormethan chromatography ore. The herbicide effective parliamentary groups, restricted and result in 2 g of a bright oil are combined.

This oil becomes at a short silicagel column (SI 60, 70 to 230 mesh ASTM, 80 x 80 mm) with Dichlormethan methanol solvent mixtures chromatography ore. The herbicides parliamentary group one restricts and one brings in methanol to the crystallization. 50 mg of the colorless Borrelidin will receive.

The analytic and spectroscopic data of the connection received after the examples I and II agree with the appropriate literature data, so that the received material is clearly identified.

The following registered trade marks were specified in the description and the examples: SEPHADEX LH 20 epichlorohydrin-interlaced, hydroxypropyliertes Dextran in Perl form;

SEPHADEX a registered trade mark of the company is Pharmacia, Uppsala, Sweden. Laboratory finished columns LICHROPREP SI (Registered trade marks of the companies E. Merck, Darmstadt, Federal Republic of Germany) is a finished column filled with silicagel.

LEVA POLE is a Copolymeres on basis of styrene and Divinylbenzol in Perl form (macro porous);

LEVA POLE is a registered trade mark the BAVARIAN AG, Leverkusen, Federal Republic of Germany.



Europäisches  
Patentamt  
European Patent  
Office  
Office européen  
des brevets

Claims of DE3607287

[Print](#)

[Copy](#)

[Contact Us](#)

[Close](#)

## Result Page

Notice: This translation is produced by an automated process; it is intended only to make the technical content of the original document sufficiently clear in the target language. This service is not a replacement for professional translation services. The esp@cenet® Terms and Conditions of use are also applicable to the use of the translation tool and the results derived therefrom.

1. Means for the fight against animal parasites and against weeds, characterized by a content at Borrelidin.
2. Procedure for the fight against animal parasites and weeds, by the fact characterized that one lets Borrelidin the parasites and weeds or its habitat affect.  
Use of Borrelidin or of pesticides, the Borrelidin contain for the fight against animal parasites and weeds.
4. Production of Borrelidin containing means for the fight against animal parasites and weeds, by the fact characterized that one mixes Borrelidin with stretching means and/or surface-active means.
5. Verfahren for the production of Borrelidin, by the fact characterized that one the Streptomyces griseus trunk BS contains 1325 (according to DSM 3605) or its Mutanten and variants in a growth medium, which assimilatable C and N-sources as well as mineral salts under aerobes conditions cultivated and Borrelidin isolates according to usual methods.
6. Streptomyces griseus trunk BS 1325 (according to DSM 3605) and its Mutanten and variants.
7. Borrelidin receive 5 in the procedure in accordance with requirement.
8. Pesticide and herbicide, characterized by a content of Borrelidin, which will receive in the procedure in accordance with requirement 5.
9. Use of Borrelidin, which will receive in the procedure in accordance with requirement 5, for the fight of animal parasites and for the fight against weeds.
10. Use from Borrelidin to the production from means to the fight against Ektoparasiten with animals.